

UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON
- MÉDECINE -
U. E. R. GRANGE-BLANCHE

Année 1976 - N°273

**LES FLUOROCARBURES
TRANSPORTEURS D'OXYGENE**

**Etude expérimentale
comme substitut du sang chez le rat**

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 2 Juillet 1976

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Pascale FELMAN née GARET

le 28 Avril 1947

à BOURG-EN-BRESSE (Ain)

UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON
- MÉDECINE -
U. E. R. GRANGE-BLANCHE

Année 1976 - N°

**LES FLUOROCARBURES
TRANSPORTEURS D'OXYGENE**

**Etude expérimentale
comme substitut du sang chez le rat**



THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON
et soutenue publiquement le 2 Juillet 1976
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Pascale FELMAN née GARET

le 28 Avril 1947

à BOURG-EN-BRESSE (Ain)

UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON
- MÉDECINE -
U. E. R. CHIRURGIE-ANESTHÉSIE

Année 1987 - 88

LES FLUOROCARBURES
TRANSPORTEURS D'OXYGÈNE

Etude expérimentale
comme substitut du sang chez le rat



THÈSE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON
et soutenue publiquement le 14 mai 1988
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Pascal FELMAN né GARET

le 28 Avril 1987

à BOURG-EN-BRESSE (Ain)

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

=====

Président de l'Université : Mr le Pr D. GERMAIN
Premier Vice-Président : Mr le Pr E. ELBAZ
Deuxième Vice-Président : Mr P. PONCET, Maître Assistant
Troisième Vice-Président : Mr H. BONNET, Etudiant.

Secrétaire Général : Mr J. RAMBAUD, Administrateur Civil.

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DE L'UNIVERSITE

decine - GRANGE-BLANCHE - Directeur : Mr le Pr B. SALLE
ALEXIS-CARREL - Directeur : Mr le Pr C. GIROD
SUD-OUEST - Directeur : Mr le Pr J.M. ROBERT
LYON-NORD - Directeur : Mr le Pr J.P. GARIN.

ologie Humaine : Mr le Pr J.C. CZYBA
chniques de Réadaptation : Mr A. MORGON maître de Conférences agrégé
iences Pharmaceutiques : Mr le Pr L. ODDOUX
iences Odontologiques : Mr le Dr R. VINCENT
stitut Régional d'Education Physique et Sportive : Mr A. MILLON, Professeur d'E.P.S.
thématiques : Mr le Pr H. BUCHWALTER
ysique : Mr le Pr R. UZAN
imie et Biochimie : Mr le Pr J. HUET
iences de la Nature : Mr le Pr J. BRUN
iences Physiologiques : Mr R. FONTANGES, Maître de Conférences agrégé
servatoire de LYON : Mr le Pr J.H. BIGAY
ysique Nucléaire : Mr le Pr A. SARAZIN
canique : Mr le Pr J. MATHIEU
U.T. n° 1 : Mr le Pr B. POUIYET
U.T. n° 2 : Mr J. GALLET, Directeur E.N.S.A.M.

Examineurs de la Thèse :

Président : Monsieur le Professeur A. BERTOYE

Assesseurs : Monsieur le Professeur L. REVOL
Monsieur le Professeur R. FLANDROIS
Monsieur le Professeur Agrégé J.F. BOLOT
Monsieur le Professeur Agrégé J.C. EVREUX

A mes Parents,

INTRODUCTION

Chez l'homme, le transport d'oxygène nécessaire à la vie représente 250 ml d'oxygène par minute, soit pour un débit cardiaque normal, une différence de la concentration artério-veineuse en O_2 de l'ordre de 5 volumes %.

Deux modes de transport de l' O_2 sont possibles :

- soit la dissolution dans les liquides extracellulaires,
- soit la liaison avec un transporteur spécifique.

A l'état physiologique, à la pression normale, le faible coefficient de solubilité de l'oxygène dans les liquides biologiques ne permet le transport que de faibles quantités d' O_2 dissous (0,3 volumes %), le transport de l' O_2 étant en fait dévolu à l'hémoglobine, substance capable de fixer de façon réversible un volume d' O_2 important pour une pression partielle normale.

La recherche d'un sang artificiel, défini comme une substance capable et de transporter des gaz dissous et de maintenir la volémie, peut s'effectuer dans plusieurs voies :

--- soit celle de l'hyperbarie, permettant d'élever la pression partielle d'oxygène. Ainsi, on a pu maintenir en vie dans des chambres hyperbares des porcs exsanguinés avec une solution salée de dextran pendant une heure. Mais la moitié des animaux sont morts par la suite d'oedème pulmonaire,

--- soit celle des transporteurs d' O_2 :

• En raison des capacités de l'hémoglobine il est normal que l'on ait cherché à produire des solutions d'hémoglobine (86).

• Elles se présentent presque comme le substitut idéal, à la fois substitut des érythrocytes et du plasma en raison de leur capacité de transport de l' O_2 et de leur pouvoir oncotique.

Ces solutions pendant longtemps n'ont pas été faciles à préparer, avec deux problèmes essentiels à surmonter :

- celui d'une insuffisance rénale aiguë, que l'on a fini par rapporter à une coagulation intravasculaire induite par le stroma globulaire. On est arrivé à produire des solutions d'hémoglobine libres de stroma, dépourvues in vivo d'effet néfaste sur la coagulation et par conséquent sur la fonction rénale.

- Celui de la transformation ^{en} méthémoglobine: le problème peut être résolu par la conservation au froid à 5° C. Une autre solution séduisante consiste en la microencapsulation d'hémoglobine, mais ces microcapsules disparaissent rapidement du courant sanguin.

Ces solutions d'hémoglobine ont, tout au moins en Union Soviétique, déjà reçu des applications cliniques (solution d'hémoglobine à 3% , conservée lyophilisée) .

• Divers agents chélateurs (6) se comportent comme transporteurs réversibles de l'O₂. La plupart des travaux ont été basés sur le cobalt, inséré par exemple dans une molécule de porphyrine, puis dans la globine (pour donner la coboglobine).

Mais la question reste toujours posée d'une toxicité éventuelle de ces métaux. Aussi s'est-on tourné vers des transporteurs d'O₂ contenant du fer: une des raisons possibles de la propriété détenue par l'hémoglobine d'un transport réversible de l'O₂ consiste en la protection apportée à l'oxygène par la structure tertiaire de la molécule qui forme une poche: il est possible de synthétiser une substance dont la structure générale serait celle d'une porphyrine, transportant l'O₂ à l'intérieur d'une cavité hémisphérique, avec un groupement fonctionnel X permettant sa liaison avec d'autres systèmes , par exemple avec les maillons glucose d'une chaîne dextrinique. Il n'est pas sûr cependant qu'un tel chélateur de synthèse, s'il peut fixer l'O₂, soit capable de s'en séparer lorsque les conditions physiologiques l'exigent, comme le fait l'hémoglobine.

Aucun agent chélateur, n'est à l'heure actuelle en voie d'application clinique.

--- La 3ème voie consiste à utiliser des produits possédant un coefficient de solubilité des gaz élevé.

A cet égard, les dérivés perfluorés apparaissent à la fois plus efficaces et beaucoup moins toxiques que les huiles végétales ou siliconées et certains solvants, tels le benzène et le tétrachlorure de carbone (DIXON-75).

Ces composés fluorés suscitent beaucoup d'intérêt depuis une douzaine d'années, deux symposiums leur ayant été consacrés aux Etats-Unis . Si au début, les résultats pouvaient sembler un peu décourageants , d'importants progrès ont été faits dans les résultats expérimentaux , parallèlement aux efforts des chimistes en vue d'obtenir les produits les moins toxiques en même temps que les plus efficaces.

Il faut noter que des émulsions de FC ont été utilisées comme produits de "lavage" chez des malades comateux au cours d'hépatite virale grave , dans un hôpital de l'Armée de l'Air américain, mais il est difficile d'en tirer des conclusions, en raison de la mauvaise qualité scientifique de cette publication.

Ce sont ~~ces~~ fluorocarbures que nous nous proposons d'étudier; nous ferons le point de leurs caractéristiques physico-chimiques, métaboliques, toxicologiques, et après une revue non exhaustive des expérimentations actuelles, nous relaterons notre étude expérimentale d'un FC chez le rat comme substitut du sang.

GENERALITES- DEFINITIONS- NATURE CHIMIQUE

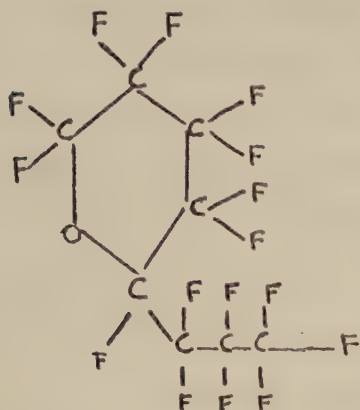
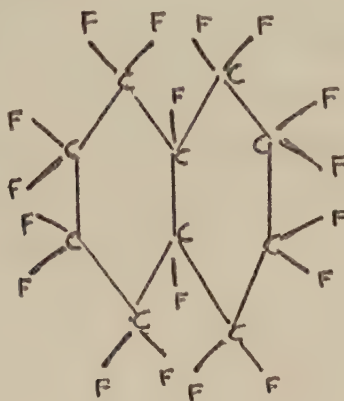
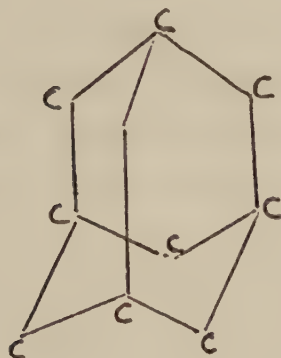
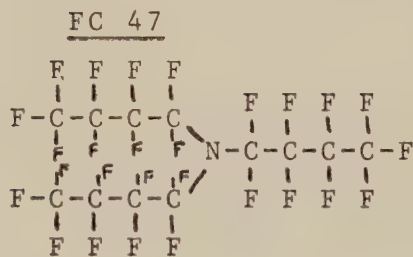
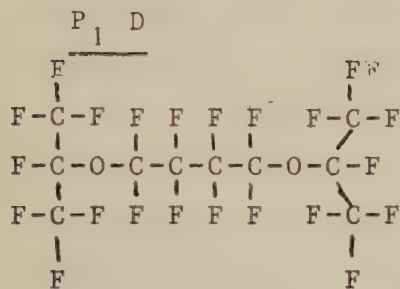
Les composés moléculaires hautement fluorés sont tous obtenus par synthèse. Le fluor est pratiquement le seul élément par lequel on peut remplacer tous les atomes d'hydrogène d'une molécule organique, d'où l'intérêt des chimistes. Cette recherche fondamentale a été ensuite largement soutenue par les très nombreuses applications que les composés fluorés ont trouvés grâce à leurs propriétés physiques, qui leur ont valu d'être utilisés comme agents propulseurs d'aérosols, anesthésiques et agents frigorigènes, puis comme agents tensioactifs (antiadhésifs-protecteurs de surfaces métalliques et plastiques, lutte contre les incendies, etc...). Leur application la plus nouvelle datant d'une dizaine d'années est celle qui nous intéresse : transporteur de gaz dissous.

DEFINITION :

En toute rigueur le terme de fluorocarbure (FC) devrait être réservé aux composés formés uniquement de carbone et de fluor. Si SLOVITER défend cette définition, si DIXON et HOLLAND élargissent un peu plus l'utilisation de ce terme aux carbures hautement fluorés qui peuvent, ou non, contenir un hétéroatome, tel l'azote, l'oxygène ou le soufre, mais qui ne contient pas d'autre halogène ou d'atome d'hydrogène, la plupart des auteurs étendent le terme de FC aux composés organiques hautement fluorés où la majorité seulement des atomes d' H^+ sont remplacés par des atomes de fluor (F). Nous emploierons comme définition celle de DIXON.

Récemment, YOUNG a édicté les règles suivantes en ce qui concerne les composés hautement fluorés ou perfluorés :

- le préfixe F : indique que tous les atomes d' H^+ liés aux atomes de carbone sont remplacés par des atomes de fluor, que les FC soient saturés ou insaturés :

NATURE CHIMIQUE DES COMPOSES PERFLUORESEXEMPLESFC cycliquesFC 80PP 5Squelette des Fluoro-
adamantanesFC linéairesFormule du PluronicFigure 1

ex: CH₃ - CH₃ : éthane

CF₃ - CF₃: F-éthane,

sauf les atomes d'hydrogène appartenant à un groupe fonctionnel ou liés à un hétéroatome (fonction amide ou amine).

Les atomes d'H⁺, s'il en persiste dans la molécule, considérée comme des substituants, sont distingués par le préfixe hydryl; les groupes F-alkyles (C_n F_{2n + 1}) fréquemment rencontrés sont désignés par le symbole R-F.

NATURE CHIMIQUE.

Jusqu'à présent, le terme de FC recouvre donc toute une gamme de composés perfluorés très disparates quant à leur structure, puisqu'il s'agit :

- de composés linéaire,
- ou de composés cycliques,

et aussi bien d'une amine, comme la perfluorotributyl amine (FC 43 ou FC 47) que d'un éther cyclique ramifié, tel le FX 80 ou d'un FC bicyclique, comme le PP5 (figure 1).

Ces différences de structures rendent compte des variations observées dans les propriétés physico-chimiques, et dans une certaine mesure, du destin différent des produits dans l'organisme , ces deux éléments intervenant dans la toxicité des composés perfluorés.

Si au départ, l'utilisation de tel ou tel produit relevait du hasard ou du moins de leur disponibilité, actuellement une meilleure connaissance des relations structure-activité doit conduire à une sélection, parmi ces composés, de ceux dont on peut au moins prévoir la moindre toxicité.

I- LES FLUOROCARBURES PURS:

A- Synthèse (27-59-89-99) :

Le problème crucial pour l'avancement des travaux concerne les matériaux utilisables quant à leur nombre, leur définition, leur pureté, ce qui pose le problème de la méthode de synthèse: en effet, la plupart des composés utilisés jusqu'ici et commercialisés pour l'usage industriel, était préparé par fluoration électrochimique, cette méthode aboutissant à l'obtention de mélanges complexes dont la composition peut varier selon le lot; et cela explique la difficulté dans l'interprétation et la comparaison des résultats obtenus par les différents auteurs, résultats paraissant à première vue contradictoires.

Les méthodes de synthèse peuvent être classées en quatre catégories :

1- La fluoration par le fluor élémentaire:

- soit directe, en phase vapeur,
- Soit indirecte par des fluorures métalliques.

a- La fluoration en phase vapeur:

Un courant gazeux de fluor et d'azote réagit avec un hydrocarbure dans des réacteurs spéciaux à des températures de 130 à 300° C. Cette technique a comme inconvénients :

- d'être assez délicate à mettre en oeuvre,
- d'être difficilement contrôlable; en effet, la réaction est très fortement exothermique, l'énergie libérée va entraîner la rupture de certaines liaisons carbone-carbone du squelette moléculaire; on obtient ainsi un mélange de produits perfluorés de structures et de masses très voisines, donc difficilement séparables.

Cette méthode n'est pas utilisée pour l'usage commercial.

b- La fluoration par des fluorures métalliques,

type: le trifluorure de cobalt, d'usage limité en Angleterre,

présente l'avantage sur la méthode précédente que le fluor élémentaire n'est pas utilisé de façon directe, la réaction est par conséquent moins exothermique, les ruptures des liaisons C-C sont réduites.

- L'hydrocarbure sous forme de gaz, souvent mélangé avec de l'azote, est mis en contact avec le trifluorure de cobalt à 200- 250° C.

La méthode est cependant encore peu sélective, donnant naissance à un taux important de composés partiellement fluorés.

- Il faut souvent passer par des dérivés chlorés: ces techniques de remplacement du chlore par le fluor sont à l'origine des produits paraissant actuellement parmi les plus intéressants (perfluorodécaline- perfluorométhyl-décaline), obtenus par fluoration d'aromatiques chlorés à 400° C.

2- La fluoration électrochimique est la méthode la plus couramment utilisée dans l'industrie. Ce procédé a été découvert par le Pr J.H. SIMONS. Il consiste en la fluoration anodique d'un composé organique, qui subit une hydrolyse dans l'acide fluorhydrique anhydre, dans une cellule électrochimique.

Les composés organiques de départ sont divers :

- hydrocarbures, éthers, amines, acides carboxyliques.

Tous les atomes d'hydrogènes sont remplacés par des atomes de fluor (F.), les groupes fonctionnels- COF- et -SO₂ F- restant intacts.

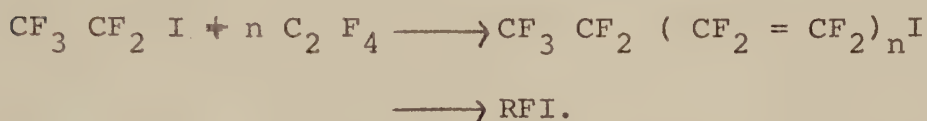
Cette réaction est également très exothermique (la liaison C-F vaut 100 à 120 K cal/mole, la liaison C-H 90 K cal/mole), avec toujours comme corollaire l'obtention de mélanges d'isomères difficilement séparables, sinon dans certains cas, par chromatographie gazeuse ou distillation sur colonne; il y a par exemple 6 à 16 constituants dans le FX 80.

A l'opposé de ces méthodes donnant des composés aux points d'ébullition connus, mais sous forme de mélanges d'isomères se situent les procédés chimiques, donnant des composés de bonne pureté, de structure connue.

3- La synthèse chimique.

Il s'agit de synthèse de molécules perfluorées par greffe de motifs F-alkylés sur des molécules fluorées simples, produites industriellement avec une pureté satisfaisante.

Par exemple: on télomérisé le tétrafluoroéthylène avec l'iodure de perfluoroéthyle $\text{CF}_3 \text{ CF}_2 \text{I}$ obtenu de la manière suivante :



Il est possible de faire varier les chaînes fluorées en nombre et en longueur.

Cette méthode doit permettre de constituer des séries homogènes de composés, dont la masse moléculaire, la tension de vapeur, la viscosité sont ajustables, en somme de réaliser des FC " sur mesure".

B- Les propriétés physico-chimiques (27-89-99):

(elles sont résumées dans le tableau 1).

L'introduction de fluor dans une molécule en modifie beaucoup les propriétés physico-chimiques, d'autant plus quand tous les atomes d' H^+ sont remplacés par du fluor.

1°- La stabilité chimique et thermique:

Les FC se caractérisent par une stabilité chimique et thermique remarquable :

- ils résistent à l'acide nitrique bouillant, à l'acide sulfurique ou chromique, aux solutions de permanganate.
- La stabilité thermique est également importante puisqu'en général les matériaux purifiés sont stables jusqu'au moins 400° C.

Cette stabilité est due en majeure partie à l'électronégativité considérable de ces molécules , consécutive à celle des atomes de F. La très faible polarité des atomes de fluor et leur

8-bis-

PROPRIETES PHYSICOCHEMISTIQUES INTERESSANTES DES FLUOROCARBURES

Code v. annexe I	PM	Eb °C	Tension vapeur à 37° (mmHg)	Densité g/ml à 25°C	Viscosité dynamique à 25°C)cs	Tension superfi à 25°C dynes/cm	Solubilité ml/100ML O ₂ N ₂		Gaz à 37° CO ₂
FC 43	671	168	3,5	1,83	2,8	16,1	40,3	28,6	142
FC 47		185							
FC 75	416	99	75	1,77	0,8	15	48,5	34	100
FC 80		107							
FX 80	416	103	88	1,79	0,66	15,2	48,5	34	160
Caroxin D	570	135	12,8	1,75	1,2	13,8	42,2		140
P ₁ D									
Caroxin F	804	121	45	1,75	0,88		47,4	31	151
PP ₁	338	58	390	1,70	0,39	12	70		
PP ₂	300	52	186	1,79	0,88	14,2	62		
PP ₃	400	102	67	1,83	1,04	15	54		
PP ₅	465	140	13	1,92			50		
PP ₉	512	160	4,5		3,32	15	43		
E ₁	286	41	620	1,54	0,3	10,4			
E ₂	452	104	51,7	1,66	0,6	12,9			
E ₃	618	152	5	1,72	1,3	14,2			
E ₄	784	194	1,5	1,76	2,3	15,2			
E ₅	950	224	0,3	1,79	3,9	15,9			
E ₉	1116	204	0,01	1,85	20		35		150
C ₈ F ₁₇ CH=CH ₂	446	105	12	*1,6	*2,11	*17	*44	33	*200
C ₁₆ F ₁₃ CH=CH	664	195	0,4	*1,7	*7,73	*17	*42,5	29	*205
I C ₆ F ₁₃									

* à 20°C, • à 25°C

TABLEAU 1

D'après RIESS, Uguine Kulman

CODE	ORIGINE	CONSTITUTION CHIMIQUE	OBSERVATIONS
FC 43 F 47	3 M Company	Amines perfluorées principal constituant N (C ₄ F ₉) ₃	Mélange complexe obtenu par voie électrochimique; FC 47=qualité médicale du FC-43
FC 75 FC 80 FX 80	3 M Company	Ethers perfluorés principal constituant $\begin{array}{c} \text{F}_2\text{C} - \text{CF}_2 - (\text{CF}_2)_3\text{CF}_3 \\ \\ \text{O} - \text{CF}_2 \end{array} \quad (60 \%)$	Mélange complexe (6-16 constituants) voie électrochimique FX 80=qualité médicale
Caroxin D P ₁ -D Phénindione	Allied chemical corporation	(CF ₃) ₂ CF-O-(CF ₂) ₄ -O-CF(CF ₃) ₂	Pureté 99 % voie chimique
Caroxin F P-12 F PP 5	" Smelting	(CF ₃) ₂ CF-O-(CF ₂) ₅ CF ₃ Perfluorodécaline	Pureté 99 % voie chimique + cis et trisperfluorodécalines impuretés
PP ₉	-	Perfluorométhyl-décaline	mélange d'isomères PP ₉ + PP ₅ + impuretés
Préons E ₁ -E ₉	Du pont de Nemours	F(CF(CF ₂ O) _n - CH.FC F ₃) $\begin{array}{c} \text{CF}_3 \\ \\ \text{F}(\text{CF}_2\text{O})_n - \text{CH.FC F}_3 \end{array}$	n° du code = degrés de condensation n
E 66	ERA 473 NICE PCUK Pierre Bénite	C ₆ F ₁₃ -CH=CH-C ₆ F ₁₃ C ₈ F ₁₇ C ₂ H ₅	Pureté 99 % voie chimique Pureté 99 % voie chimique
E ₆₀	Ruck Pierre Bénite	C ₆ F ₁₃ -CH=CH ₂	

TABLEAU 2

diamètre ($1,32 \text{ \AA}$) supérieur à celui des atomes d'hydrogène (H) ($1,09 \text{ \AA}$) font qu'ils forment une sorte de manchon dense d'électrons protégeant les liaisons C-C du squelette.

Les liaisons inter-moléculaires seront donc faibles, ce qui explique certaines de leurs propriétés physiques (points d'ébullition et tension superficielle bas).

D'autre part, la liaison C-F est plus énergétique que la liaison C-H, ce qui rend compte également de la stabilité plus grande des FC par rapport à leurs analogues hydrocarbonés.

2°- Les propriétés physiques:

Ce sont des liquides incolores , denses, en principe non toxiques, dont le P.M. s'échelonne entre 250 et 7000.

a- Tension de vapeur et point d'ébullition:

La tension de vapeur varie en sens inverse du point d'ébullition; elle est souvent plus élevée que celle de l'hydrocarbure correspondant.

A 37° C , elle varie selon les FC les plus utilisés de 0 à 620 torr. Nous en verrons l'importance plus loin.

Les points d'ébullition sont beaucoup plus bas qu'ils ne devraient l'être pour des composés de tel P.M.; ils sont seulement légèrement supérieurs aux gaz rares de P.M. comparable. Grâce à l'application de l'équation de KINNEY, il est possible de prévoir les points d'ébullition des perfluoroalkanes; pour les perfluoroalkyldécalines , les points d'ébullition augmentent avec la longueur de la chaîne de carbones. Lorsque les points d'ébullition de plusieurs membres de séries homologues sont connus, il est possible de prévoir approximativement les points d'ébullition des autres composés par extrapolation.

b- Tension superficielle:

Les tensions superficielles des FC sont particulièrement basses, beaucoup plus basses que celles des hydrocarbures correspondants, les plus basses jamais trouvées pour des liquides.

Elles leur confèrent le caractère d'agents " mouillants "

ou agents tensioactifs. Elles expliquent qu'ils soient insolubles dans l'eau, et très peu solubles dans la plupart des solvants.

c- Densité:

La densité des FC saturés est environ deux fois celle des hydrocarbures correspondants. Comme conséquence, les animaux flottent facilement dans les FC liquides.

La densité des FC à chaîne droite est environ de 1,80 à 1,85 g par ml, pour les composés en C 10, C 12. Les FC cycliques plus complexes comme le perfluoroanthracène ou phenanthrène C14 F24 ont des densités d'environ 2,0 g par ml.

d- Viscosité:

La viscosité absolue des FC est de beaucoup supérieure à celle des hydrocarbures correspondants. Cependant, si la viscosité est exprimée en tant que viscosité dynamique (c'est à dire rapport viscosité absolue), les FC ont alors des valeurs densité quelque peu inférieures aux hydrocarbures.

e- Enfin, indice de réfraction, vitesse de propagation du son et constante diélectrique sont particulièrement bas.

3°- Les propriétés chimiques:

a- Solubilité des gaz:

=====

La solubilité élevée des gaz dans les FC apparait comme la propriété la plus intéressante au point de vue biologique.

A titre de comparaison, à 37° C en oxygène (O₂) pur, l'eau contient 3 ml d'O₂ pour 100 ml, le sang 20 ml%, et les FC en moyenne 50 ml%, ce dernier chiffre dépendant dans une certaine mesure de la nature des composés.

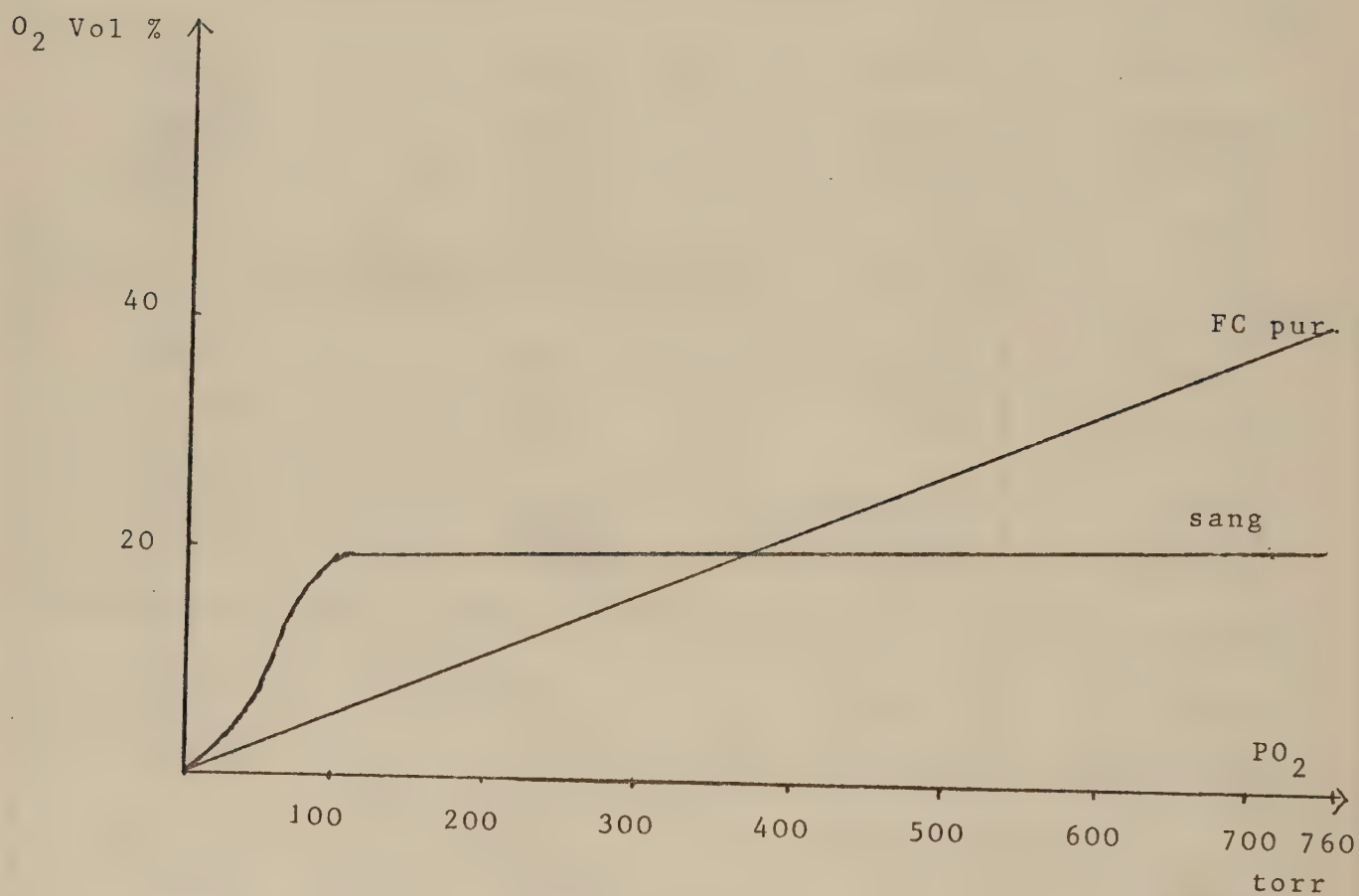
Ainsi, l'étude du tableau 3 montre qu'à 37° C, les composés fluorés peuvent contenir :

- de 33 à 70 volumes% d'O₂ en atmosphère d'O₂ pur,
- de 140 à 240 volumes % de CO₂ en atmosphère de CO₂ pur,
- de 28 à 34 volumes % d'azote en atmosphère d'azote pur.

SOLUBILITE DES GAZ DANS LES SOLVANTS PERFLUORES

GAZ	F.C 80	L. 1822	F.C 47
AIR 25° C			
O ₂ g/1000 g	0,093	0,072	0,072
<u>ml/100 ml</u>	<u>12,6</u>	<u>10,5</u>	<u>10,3</u>
N ₂ g/1000 g	0,181	0,158	0,134
<u>ml/100 ml</u>	<u>27,9</u>	<u>26,3</u>	<u>22,8</u>
AIR 37° C			
O ₂ g/1000 g	0,086	0,065	0,071
<u>ml/100 ml</u>	<u>11,7</u>	<u>9,8</u>	<u>10,4</u>
N ₂ g/1000 g	0,171	0,124	0,129
<u>ml/100 ml</u>	<u>26,7</u>	<u>20,8</u>	<u>21,6</u>
OXYGENE 25° C			
g/1000 g	0,361	0,285	0,272
<u>ml/100 ml</u>	<u>48,8</u>	<u>41,5</u>	<u>38,9</u>
OXYGENE 37° C			
g/1000 g	0,354	0,271	0,276
<u>ml/100 ml</u>	<u>48,5</u>	<u>40,7</u>	<u>40,3</u>
AZOTE 25° C			
g/1000 ml	0,216	0,184	0,174
<u>ml/100 ml</u>	<u>33,4</u>	<u>30,6</u>	<u>28,4</u>
AZOTE 37° C			
g/1000 g	0,217	0,162	0,171
<u>ml/100 ml</u>	<u>34</u>	<u>27,8</u>	<u>28,6</u>
CO ₂ 25° C			
g/1000 g	1,95	1,55	1,46
<u>ml/100 ml</u>	<u>192</u>	<u>164</u>	<u>152</u>
CO ₂ 37° C			
g /1000 g	1,61	1,31	1,34
<u>ml/100 ml</u>	<u>160</u>	<u>143</u>	<u>142</u>

TABLEAU 3 d'après SARGENT et SEFFL



Evolution de la concentration en O_2
en fonction de la pression partielle

Figure 2

La capacité de dissolution du CO_2 est très supérieure à celle de l' O_2 (x par 3 ou 4).

La capacité de dissolution varie en fonction du P.M.: plus le P.M. est petit, plus la capacité de dissolution est grande.

Par contre, en atmosphère d'air, les FC contiennent beaucoup moins de gaz dissous :

- ainsi pour le FC-80, le contenu en O_2 passe de 48,5 volumes% en O_2 pur à 37° C à 11,7 volumes% en air.
- Pour le FC-47, il passe de 40,3 volumes % en O_2 pur à 10,4 volumes % en air.

Pour les FC comme pour tous les liquides, les concentrations en gaz dissous varient proportionnellement à la loi de HENRY jusqu'à la pression de 1 atmosphère , c'est à dire que la quantité d'oxygène dissous est proportionnelle à la pression partielle du gaz; cela rend compte de la nécessité de fortes PO_2 pour obtenir une concentration en oxygène intéressante, au contraire, de ce qui se passe pour l'hémoglobine (voir figure 2).

L'étude de cette figure montre d'ores et déjà que les FC n'offrent d'intérêt comme transporteurs d'oxygène que pour des pressions partielles d'oxygène supérieures à la pression partielle atmosphérique.

b- Solubilité des FC:

=====

Ils sont en général insolubles dans l'eau et l'alcool; cependant en fonction de leur P.M., ils peuvent être partiellement solubles dans les hydrocarbures aliphatiques, les éthers, ou les solvants chlorés.

La plupart des FC utilisés comme transporteurs des gaz ne sont pas miscibles avec la majorité des liquides, en particulier pas avec le sang; cela a rapidement conduit au remplacement des FC purs par des émulsions de FC, en ce qui concerne tout au moins l'utilisation comme substitut du sang.

II- LES EMULSIONS.

Un FC pour être utilisé comme substitut du sang, doit posséder les quatre propriétés suivantes:

- un transport d'O₂ et de CO₂ efficace,
- l'inertie biologique,
- une tension de vapeur basse,
- et la capacité de former des émulsions; c'est ce dernier point que nous allons envisager.

A- Définitions:

On définit par émulsion un système à deux phases correspondant à deux liquides incomplètement miscibles, l'un étant dispersé dans l'autre en micelles d'un diamètre minimum de 0,1 micron.

Dans le cas des émulsions de FC, la phase discontinue ou interne correspond aux micelles de FC, la phase continue ou externe est constituée par une solution aqueuse saline, additionnée éventuellement de glucose, d'ions, etc..

On définit, les microémulsions: les micelles ont un diamètre de 0,1 à 0,01 micron, à la limite des solutions et des émulsions,

• les macroémulsions dont les micelles sont supérieures à 0,1 micron, mais inférieures à 1 ou 2 microns.

Pour former une émulsion, deux facteurs sont nécessaires :

- d'une part, une certaine quantité d'énergie mécanique,
- d'autre part, un surfactant.

Un surfactant est un agent chimique possédant la capacité de réduire la tension superficielle à l'interface, ce qui permet l'augmentation importante de la surface d'échange.

B- Caractères généraux d'une émulsion (101-102):

1°- La couleur est variable, fonction de la taille des particules

et de la différence des indices de réfraction entre les phases.

2°- La viscosité qui peut varier de celle d'un liquide très fluide à celle d'une pâte, est habituellement proche de celle de la phase externe, quand celle-ci représente plus de 50% du volume de l'émulsion.

La viscosité peut être réduite, soit en augmentant le pourcentage de la phase continue, soit en diminuant sa viscosité. Elle peut être accrue par l'augmentation du pourcentage de la phase interne, et par la réduction de la taille des particules de cette phase.

3°- Le caractère le plus important est représenté par la STABILITE d'une émulsion.

Plusieurs facteurs interviennent :

a- La taille des micelles et sa distribution dans la phase interne:

Elles dépendent elles-mêmes de la méthode de préparation, de l'énergie apportée, de la différence de viscosité entre les deux phases, du taux et du type de surfactant. Les grosses particules de 5 à 25 microns forment des émulsions très instables; il faut obtenir des micelles d'un maximum de 1 à 2 microns pour avoir une émulsion stable.

Pour les émulsions de FC, nous verrons qu'il faut arriver à des micelles de 0,1 à 1 micron.

L'énergie apportée lors de l'émulsification est le facteur le plus important intervenant dans la taille des particules.

b- Le surfactant:

Il intervient dans la stabilité d'une émulsion par l'un quelconque d'effets distincts incluant la réduction de la tension à l'interface, la formation d'un film solide à l'interface, sa solubilité relative dans les deux phases, la formation d'une double couche électrique.

Tous les émulsifiants ont obligatoirement une partie hydrophile et une partie lipophile, et la facilité d'émulsification dépend de la proportion relative de celles-ci. Dans les émulsions, les émulsifiants s'orientent à l'interface, la partie hydrophile tournée vers l'eau, la partie hydrophobe tournée vers l'huile. Le choix d'un émulsifiant est donc souvent basé sur l'utilisation du système HLB (system of hydrophiles-lipophiles balances, qui sont souvent calculés selon des règles semi-empiriques).

Chaque émulsion a une balance hydrophile-lipophile optimum pour l'obtention d'un système stable, ainsi, une HLB de 8-18 est bonne pour obtenir une émulsion stable d'un FC dans l'eau.

L'intérêt de ce système est que la HLB d'un émulsifiant indique le type d'émulsion qui sera formée. Sa faiblesse est qu'il n'est pas capable de rendre compte de l'efficacité d'un émulsifiant vis à vis d'un système particulier. Divers systèmes de sélection d'émulsifiants ont été proposés :

- essai de relation entre HLB et structure de l'émulsifiant,
- système basé sur la polarité du surfactant,
- relation: constante diélectrique et HLB,
- relation entre coefficient de dispersion et HLB.

Aucun n'est accepté par tous.

Jusqu'à présent, relativement peu d'émulsifiants ont été utilisés.

UN BON SURFACTANT PERMET DE DIMINUER LA QUANTITE D'ENERGIE NECESSAIRE A LA FORMATION DE L'EMULSION.

Certains surfactants comme l'albumine, les dérivés de la cellulose, les phospholipides sont naturels, mais la grande majorité des surfactants disponibles sont des produits de synthèse.

On distingue deux classes de surfactants:

- ioniques:
 - . cationiques
 - . anioniques
- non ioniques.

En ce qui concerne le sang artificiel, l'émulsifiant ou le système émulsifiant doit obéir à certains impératifs:

- il ne doit pas être toxique; il ne doit donc pas contenir d'impuretés ni en libérer lors de son action.
- Il doit être soluble dans l'eau à pH 7,4 , également dans le sérum salé ou physiologique.
- Il doit être chimiquement inerte. Il ne doit pas former de complexe avec un quelconque composant du sang; il ne doit pas entraîner d'hémolyse.

- Il doit être facilement éliminé de l'organisme.

D'autres qualités sont, sinon nécessaires, du moins désirables :

- il doit être efficace, afin d'être utilisé en petites quantités;
- il doit être peu coûteux et commercialement disponible en grandes quantités (pour assurer la continuité et la reproductibilité).
- Il doit développer une pression colloïde analogue à la pression développée par les protéines sanguines.

C- Les émulsions de FC- Préparation.

En raison du nombre de facteurs que l'on peut faire varier, lorsqu'on prépare une émulsion de FC, on peut dire qu'il y a autant d'émulsions que d'expérimentateurs. Si les émulsions présentent forcément un certain nombre de points communs (composition générale, mode d'émulsionnement, taille des micelles), elles diffèrent dans plusieurs points de détails, ces différences rendant compte des variations dans les résultats obtenus.

1°- Choix du fluorocarbure.

- Parmi les FC que l'on peut appeler de la première génération, un certain nombre continue à être utilisé :

- avec succès en ce qui concerne le FC-47 par GEYER (32, 33, 34, 35).

- Avec moins de succès pour le FC-80 par SLOVITER et ROSENBLUM (90, 91, 108, 110, 112).

Nous renvoyons au tableau I pour l'étude des propriétés physico-chimiques : le FX-80 se distingue par une tension de vapeur élevée et une toxicité importante reconnue par plusieurs auteurs.

- De nouveaux composés ont vu le jour, tour à tour utilisés par CLARK (20, 21, 23, 25), les derniers en date (fluorodécaines et fluoroadamantanes), se distinguent des autres par une rétention courte dans l'organisme.

- Leurs propriétés physico-chimiques en ce qui concerne la tension superficielle et la solubilité des gaz sont voisines. L'intérêt des composés les plus récents réside :

- soit dans une moindre toxicité
- soit dans une moindre rétention
- soit dans une meilleure stabilité en émulsion.

2°- Choix du surfactant.

a- Si le dextran en raison de sa disponibilité et de son ancienneté a été essayé, il a été rapidement abandonné, car il entraîne des accidents de type choc anaphylactique chez le rat.

b- Si l'albumine a été également abandonnée par CLARK (20)

car l'émulsion FC-albumine est si rapidement captée par le foie lorsqu'elle est injectée chez le chien, que le taux sanguin du FC n'augmente jamais, SLOVITER (108,110,112) continue cependant à utiliser l'albumine comme surfactant en solution à 8%.

c- Par ailleurs, il n'existe pratiquement pas de surfactant anionique et cationique qui ne provoque une hémolyse, lorsqu'ils sont mélangés au sang. De même, parmi les surfactants non ioniques de synthèse, il n'y en a que quelques uns à ne pas être hémolysants.

Les polyols polymérisés (encore appelés poloxoalkol ou poloxamer) sont des polymères de polyoxyéthylène et polyoxypropylène dont le poids moléculaire varie entre 1100 et 15000. Parmi eux, le plus employé actuellement est le Pluronic F-68, de poids moléculaire : 8000, composé pour 80% d'oxyde d'éthylène et pour 20% d'oxyde de propylène.

Les avantages du Pluronic sont multiples:

il remplit les cinq impératifs exigés d'un bon émulsionnant et parmi les qualités souhaitables, seule la condition d'une petite quantité n'est pas remplie. Par contre, il développe une pression colloïde importante.

On pense que la stabilité de l'émulsion qu'il procure serait due à la multiplicité des groupements hydrophiles et hydrophobes, chaque molécule étant attachée en plusieurs points.

Outre les quantités relativement importantes nécessitées, il est caractérisé par une certaine toxicité proportionnelle à sa concentration.

d- Les lécithines du jaune d'oeuf ont l'avantage sur le Pluronic d'être en Europe largement utilisées, comme émulsionnants des lipides utilisés dans l'alimentation intra-veineuse.

Elles forment avec les FC, en particulier la perfluorodécaline une émulsion très stable, plus que celle constituée par perfluorodécaline/pluronic F-68 (PF-68)..

On les utilise (123) , à raison de 4% du volume total de l'émulsion.

e- Enfin, en raison de la basse tension superficielle des FC, il était logique d'utiliser des surfactants fluorocarbonés (22, 25, 16). L'un des avantages est représenté par l'existence d'une extrémité fluorée qui sera dissoute dans la phase fluorocarbonée, ce qui facilitera d'autant l'émulsion. Cette voie a cependant été peu utilisée jusqu'à présent.

Un des surfactants fluorocarbonés utilisés par CLARK ne donnait pas satisfaction en raison d'une toxicité assez importante pour des pourcentages faibles (il s'agissait de l'A.S.A. Léthale à 2%).

3°- Le procédé d'émulsionnement des FC.

Les méthodes les plus employées utilisent soit l'homogénéisateur mécanique, soit les ultra-sons. Une méthode originale est représentée par la méthode d'autoémulsionnement qui est encore à améliorer.

a- Les procédés mécaniques.

Seul l'homogénéisateur mécanique type GAULIN est capable de produire rapidement des émulsions; il est utilisé avec une pression de $1,4 \times 10^6$ à $2,1 \times 10^6$ kg par m².

b- Avec un générateur d'ultra-sons type BRAUSON, l'émulsionnement nécessite environ trois heures. Il existe forcément une surchauffe qui oblige à utiliser un bain réfrigéré de recirculation de façon à maintenir la température de l'émulsion à + 10° C.

Deux améliorations ont été apportées à ces procédés d'émulsionnement:

- CLARK (25) s'est aperçu qu'après passage aux ultra-sons, il existe une quantité importante d'ions fluor libres dans l'émulsion : l'énergie étant assez importante pour entraîner la rupture de la liaison carbone-fluor. Ces quantités sont

généralement faibles de l'ordre de 2 à 100 ppm, détectées par une électrode à fluor , type ORION. CLARK a proposé de passer l'émulsion sur résines échangeuses d'ions ou de la dialyser. Ces procédés entraînent la disparition pratiquement totale des ions fluor libres.

Après ce passage sur résines, les émulsions se sont révélées moins toxiques.

- GEYER (35) propose d'utiliser une atmosphère de CO₂ durant l'émulsionnement, d'une part, parce que le CO₂ très soluble dans le FC facilite son émulsionnement, d'autre part, parce qu'il prévient la formation des ions fluor; enfin parce qu'il permet d'éviter l'oxydation du Pluronic.

Les résultats de la figure 3 confirment que l'atmosphère de CO₂ prévient la formation d'ions fluor; est-ce parce qu'il facilite l'émulsion et donc, que l'énergie employée est moins grande? L'exposition au générateur d'ultra-sons est cependant identique dans tous les cas à la même puissance.

N°	FC 47 ml	H ₂ O ml	Durée de passage aux U.S	Gaz	Concentration en ions fluor ppm
1	5	5	30minutes	CO ₂	inferieur à 4
2	5	5	30 -	N ₂	82
3	5	5	30 -	O ₂	93
4	5	5	30 -	Air	70
5	éch.1 repassé aux ultra-sons		60 -	Air	79
6	éch.4 idem.		60 -	Air	136
7	éch.4 idem.		60 -	CO ₂	75

INHIBITION DE LA FORMATION D'IONS F DURANT LE PASSAGE AUX
ULTRA SONS DU FC 47. - Figure 3-

c- Une 3ème méthode semble prometteuse:

C'est celle de la microémulsion spontanée (102) ou autoémulsion (16) ne nécessitant qu'une agitation douce , ce qui doit éviter la rupture des liaisons C-F. Cette méthode utilise comme surfactant des produits fluorocarbonés consistant dans le premier cas en un propulseur fluorocarboné éliminé ensuite par chauffage à 36° C, et dans le deuxième cas, en un couple de deux produits perfluorés.

4°- Caractéristiques finales de l'émulsion.

L'émulsion est en règle générale constituée d'un fluorocarbure, d'un surfactant, d'eau, plus certains additifs comme glucose, ions, antibiotiques.

a- La taille des micelles doit être de 0,1 à 1 micron au maximum; on s'oriente actuellement vers des particules de taille encore plus faible, comprises entre 0,01 et 0,1 micron, le diamètre étant déterminé par l'énergie mécanique apportée lors de l'émulsification, la concentration et la nature du FC, les qualités du surfactant.

En général, plus la taille des particules est réduite, plus l'émulsion est transparente, plus la densité optique est faible comme le montre le tableau ci-dessous:

Taille des particules	Aspect	Densité optique
1 à 10	blanc laiteux	100
0,1 à 1	blanc bleuâtre	10
0,01 à 0,1	semi translucide	1
0,001 à 0,01	translucide	0,1

Selon CLARK (20) Figure 4

Ainsi, le simple aspect d'une émulsion de FC permet de savoir à peu près la taille des particules.

EMULSIONS DE FLUOROCARBURE à 10 % et de F 68 à 5 %

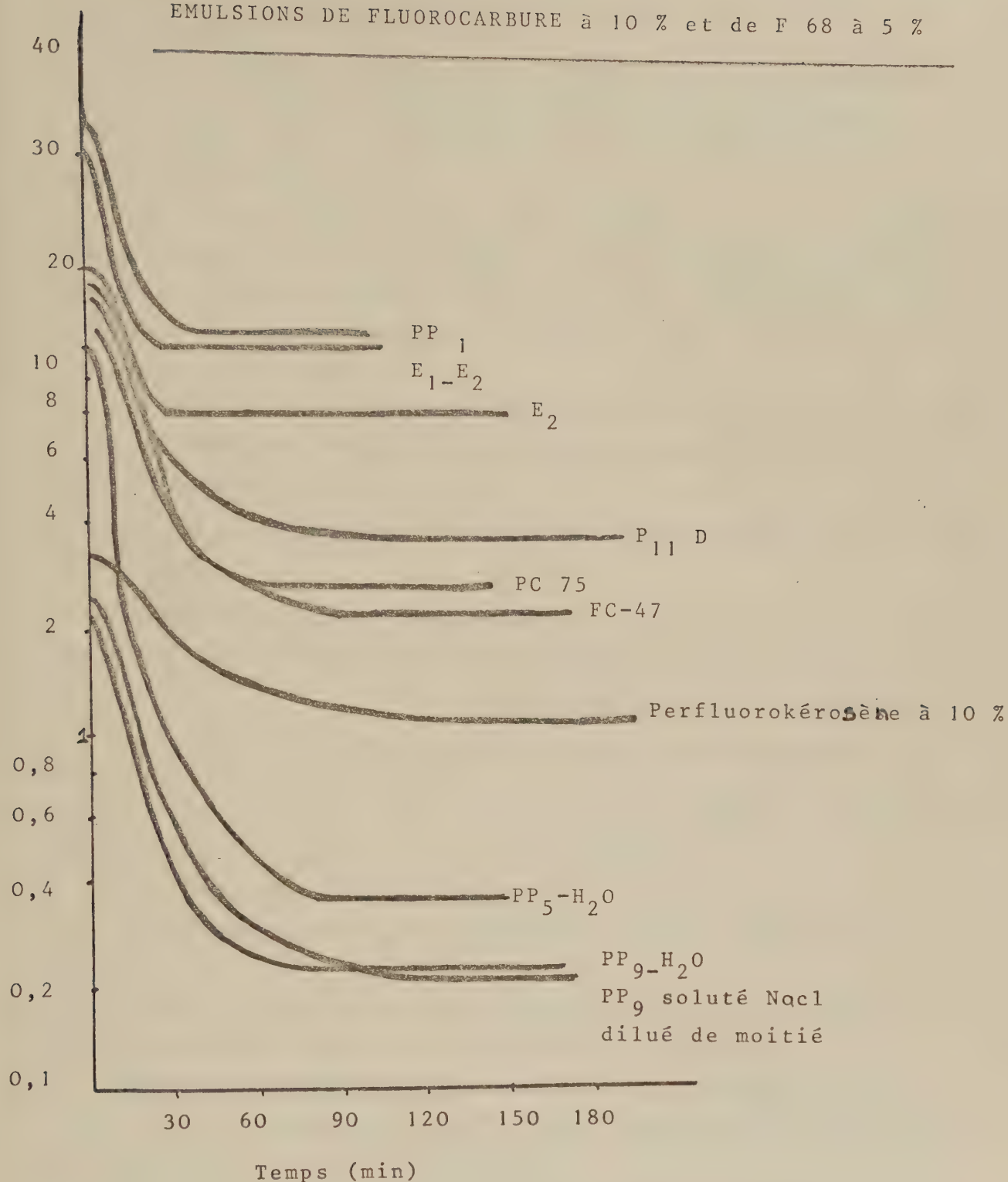


Figure 4bis

EVOLUTION DE LA DENSITE OPTIQUE AU COURS DE L'EXPOSITION
AUX ULTRASONS

selon CLARK (1973).

Il est cependant recommandé de contrôler la qualité de l'émulsion par d'autres moyens :

- en particulier, l'enregistrement de la densité optique (fig. 4 bis) celui-ci pratiqué au cours de l'émulsification permet :

• d'une part, d'éliminer les FC ne pouvant être dispersés en fines micelles ,

• d'autre part, de contrôler l'émulsification pendant son déroulement; dès que la courbe de densité optique atteint un plateau, on peut arrêter l'émulsification: le plateau caractéristique de chaque émulsion correspond à la zone de stabilité de celle-ci. (24).

• Enfin de contrôler dans le temps la stabilité de l'émulsion en fonction de la rapidité avec laquelle la densité optique amorce une remontée.

- L'étude au microscope électronique après réplique au carbone (16, 31),

- la centrifugation différentielle (31, 123) dont les résultats ont été vérifiés par la microscopie électronique.

b- La concentration du fluorocarbure:

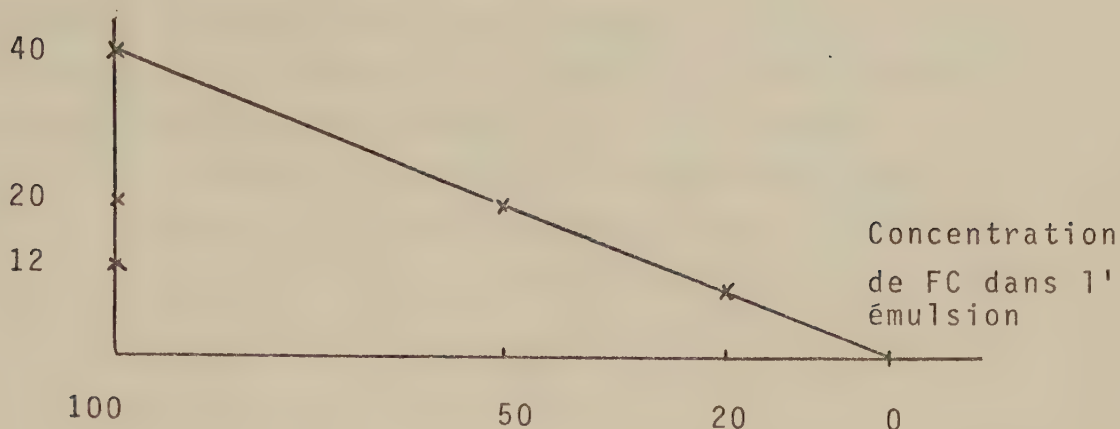
représente un compromis entre des concentrations trop élevées, entraînant une viscosité gênante et une mauvaise dispersion de l'émulsion, et des concentrations trop faibles pour avoir un contenu en O₂ satisfaisant.

Elle se situe entre 10 et 30% , la concentration optimum paraissant dans les dernières émulsions située entre 8 et 15%.

Cette concentration du fluorocarbure est bien entendu responsable du contenu en oxygène de l'émulsion.

La figure 5, page suivante, montre à l'évidence que la capacité de dissoudre l'oxygène est réduite parallèlement au pourcentage de FC dans l'émulsion:

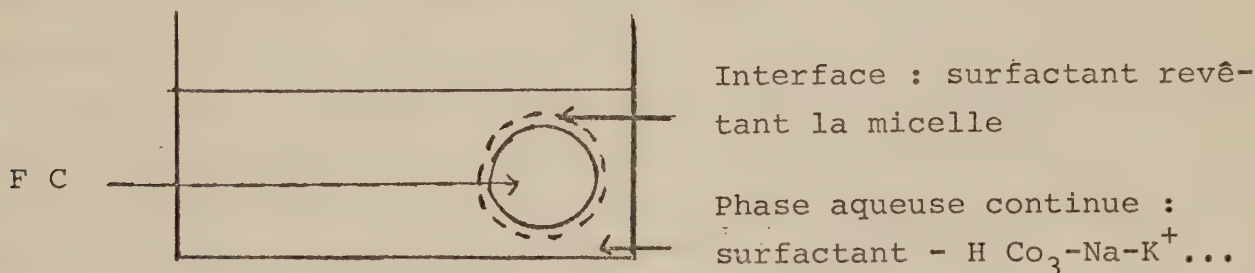
plus le pourcentage est faible, moins la concentration est importante.



c- De même la concentration en Pluronic F68

surfactant le plus utilisé, représente un compromis entre des valeurs élevées, susceptibles d'être toxiques, et des valeurs basses, inefficaces. La concentration usuelle est comprise entre 5 et 10% du volume de l'émulsion.

d- Enfin, le rapport des deux concentrations ci-dessus (concentration en FC, concentration en surfactant) n'est pas indifférent. Si l'on se rapporte au schéma ci-dessous d'une émulsion



on conçoit aisément qu'un film trop épais de surfactant autour d'une petite micelle constitue une gêne à la diffusion de l'oxygène.

e- Outre le surfactant et le fluorocarbure, l'émulsion est constituée de sérum salé, auquel on ajoute potassium, magnésium, phosphate, calcium, de façon à avoir des concentrations analogues à celles du sang.

L'osmolarité est vérifiée avec soin par un osmomètre, l'activité osmotique du surfactant est souvent importante, et il faut veiller à ce que l'émulsion finale ne soit pas hypertonique.

Le pH est tamponné à 7,44 par du THAM ou des bicarbonates.

Un point important est constitué par la pression oncotique du sang : le maintien par l'émulsion d'une pression analogue est capital pour le maintien de la volémie. Le Pluronic F 68 détermine une pression en gros identique , on peut lui ajouter de l'amidon hydroxyéthylé (34-35) qui joue également un rôle dans l'établissement de cette pression.

La viscosité est adaptée à celle du sang (4,5 CS..)

La stérilité de l'émulsion est assurée :

- par une filtration sur filtre millipore,
- par un chauffage modéré à 60°, 30 minutes, à trois reprises (123-) qui n'altère pas l'émulsion, mais ne constitue qu'une stérilisation imparfaite.

Bien qu'il y ait eu peu de problèmes infectieux rapportés lors de l'utilisation des émulsions, certains auteurs y ajoutent des antibiotiques, des antiseptiques en faibles quantités.

Enfin, les émulsions sont gardées au froid avant leur utilisation dans le double but de maintenir la stabilité et la stérilité. Avant utilisation, un courant gazeux d'O₂ - 95%- CO₂ 5%- est mis à buller dans l'émulsion afin de la charger en O₂.

Nous avons reproduit ci-dessous la composition des émulsions utilisées par les principaux expérimentateurs, malheureusement mis à part celle de GEYER , les autres sont très incomplètes, mais les éléments essentiels (FC-surfactant) sont mentionnés.

	GEYER 73	GEYER 75	SLOVITER	CLARK
FC				
Type	FC 47	FC 47	FC 80	PP ₅
Quantité	15-20 ml	12 ml		9,4 %
Albumine			8g	
PF 68	2,2 g	2,5 g		5 %
Amidon	3,0 g	3,0 g		
Ringer	qs	qs	qs	qs

DOSAGE - METABOLISME-

A- LES METHODES DE DOSAGE.

1°- La méthode de combustion par le sodium biphényle utilisée par CLARK (24) et WALLACE (122) permet l'analyse des FC dans le sang et les tissus. Il y a rupture de la liaison C-F avec libération d'ions fluor libres , qui sont mesurés à l'aide d'une électrode pour fluorure type ORION.

Les organes dont on veut analyser la teneur en FC doivent être pesés , afin que l'on puisse calculer leur densité, puis le volume de l'échantillon prélevé. Celui-ci est alors dilué , selon un rapport de 1 volume pour 3 , puis homogénéisé dans une solution de Pluronic à 1%. On effectue alors l'analyse par adjonction du sodium biphényle; une fois la teneur en fluorure libre connue, on calcule le pourcentage de FC dans l'échantillon à l'aide d'une courbe d'étalonnage pour le FC soumis à l'analyse. (voir tableau 4). WALLACE emploie la même technique avec une petite modification: il extrait le FC du sang par le Toluène. L'extrait Toluène réagit alors avec le sodium biphényle. Selon lui cette méthode a une sensibilité de plus ou moins 10% et peut mesurer des concentrations inférieures à 10 ppm.

2°- La chromatographie en phase gazeuse permet d'analyser le FC dans les tissus, le sang et l'air expiré.

Elle est non seulement qualitative (à chaque FC correspond un pic défini), mais également quantitative : les concentra-

ANALYSE D'ECHANTILLON DE FOIE ET DE RATE PAR COMBUSTION DU
SODIUM BIPHENYLE APRES INJECTION D'UNE EMULSION DE FC CHEZ
LE CHIEN.

Fluorocarbone	%	Quantité injectée en ml/kg	Organe analysé	Quantité trouvée dans l'or- gane, % de la dose	Temps en mois
FC 47	9,1	50	foie rate	67 3,9	21
FC 47	15,5	47	foie rate	19,6 1,9	36
FC 47	26,	50	foie	32	52
P 11 D	5,6	50	foie	52,9	40
P 11 D	17,6	60	foie	40,3	46
P 1 D	9,7	50	foie rate	66,9 6,9	26
PP 9	19,8	25	foie rate	0,2 0,04	18

Il s'agit généralement d'émulsions comportant le pluronic FC 68 comme surfactant, excepté le chien n° 3 où le surfactant est fluorocarboné.

Le temps en mois correspond au temps écoulé entre l'analyse et l'administration de l'émulsion.

tions étant calculées selon la surface des pics.

En ce qui concerne l'analyse des tissus, ils doivent être préalablement broyés avec addition d'hexane (17), la solution obtenue est ensuite asséchée et centrifugée . L'extrait est injecté dans la colonne d'un chromatographe comportant une électrode au tritium ou au nickel ⁶³, de capture des électrons, type VARIAN , après étalonnage du chromatographe par le FC étudié à diverses dilutions.

L'inconvénient est que chaque FC nécessite des conditions spéciales pour son analyse, d'où les difficultés rencontrées quand 2 ou plusieurs FC sont employés.

3°- Il existe d'autres méthodes chimiques de détermination des FC ; il s'agit de variantes de la méthode de combustion de SCHÖNIGER (dont la méthode de CLARK est dérivée) correspondant à la combustion du FC en présence d'oxygène et d'une solution de peroxyde de sodium. Cette méthode est malheureusement inexacte pour les valeurs extrêmes.

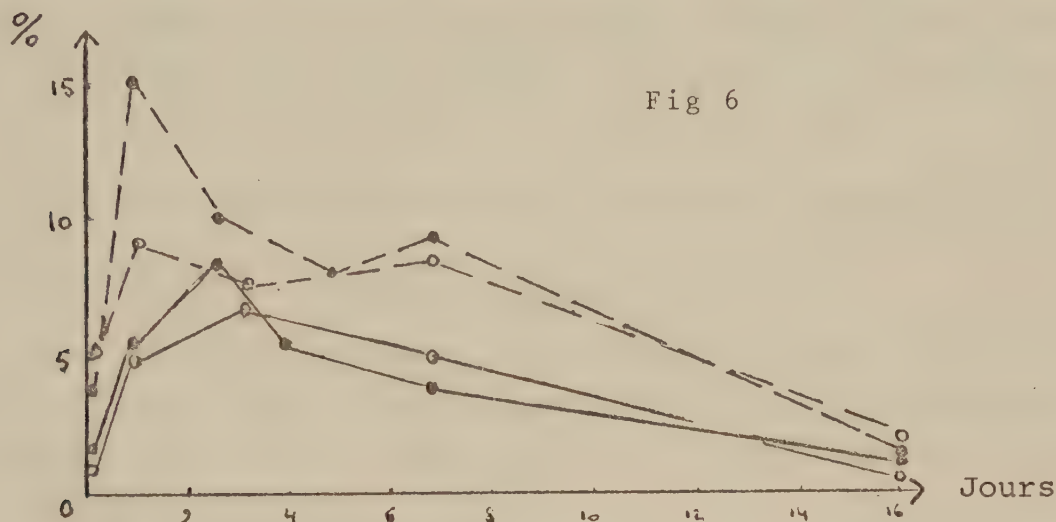
Dans le cas où les produits sont à l'état de traces, on peut s'aider de l'analyse par activation nucléaire : l'échantillon est bombardé de neutrons et on mesure les noyaux de fluor radioactif formés.

4°- Dans le sang, la simple centrifugation permet de séparer trois phases correspondant au plasma, aux globules rouges, et au FC. Le " fluorocrite" permet une estimation grossière de la teneur en FC.

5°- Microscopie optique et microscopie électronique; dans certains organes , on retrouve les particules de FC : par exemple, au niveau du foie elles sont captées dans des cellules de Küpffer et les hépatocytes pour le FC 47, dans les macrophages du tissu conjonctif pour la PP5.

Un essai d'apprécier le contenu du foie en FC consiste à compter le nombre de particules pour un nombre donné des cellules.

Si bien entendu, la méthode par combustion est beaucoup plus sensible, cette méthode de comptage par M.O. donne des résultats, dont l'évolution est en gros parallèle à celle trouvée par la méthode chimique.



Comparaison du contenu en perfluorodécalkines dans le foie, obtenu chez le chat.

--- par combustion et mesure du F⁻

— par comptage au M.O. sur 300 cellules.

6°- On peut encore utiliser pour les repérer la spectrométrie de résonance magnétique nucléaire, La spectrométrie de masse, la picnométrie ou radioscopie .(22+21).

Si ces différentes méthodes de dosage des FC ont permis de mettre en évidence leur captation par le SRE, en particulier au niveau du foie, on manque de données dynamiques sur le devenir des FC dans l'organisme, en raison de l'absence actuelle de molécules marquées.

B- LE METABOLISME DES FC ET LEUR DISTRIBUTION DANS L'ORGANISME.

Dès les premières expérimentations comportant l'administra-

tion intra-veineuse d'émulsions de FC (19-32), on a soupçonné l'accumulation de la plupart des FC dans certains tissus de l'organisme en raison de l'augmentation du poids de ces organes prélevés post-mortem. L'augmentation la plus importante se situait au niveau du foie et de la rate. Bien qu'il y ait eu quelques lésions d'oedème, cette augmentation était mise sur le compte de la présence de FC. L'étude de leur distribution montre leur présence dans le foie et la rate, à un taux variable dans les reins, jamais dans le coeur.

1°- Après introduction par voie intra-veineuse.

a- Dosages tissulaires.

Les FC en émulsions restent dans le torrent circulatoire pendant quelques jours au maximum. Ils commencent à apparaître • dans l'air expiré (pour ceux qui possèdent cette propriété) dès leur injection.

• Dans le foie au bout d'une heure. C'est d'ailleurs dans le foie qu'ils sont retrouvés en quantité la plus importante, à un bien moindre degré dans la rate.

Les expérimentations de CLARK ont montré qu'il existe deux sortes de composés (24-25) :

- les composés fluorés " SRE-philes " tel le FC-47 et le P11D, qui sequestrent dans le foie, ont tendance à y séjourner indéfiniment : des ponctions biopsies de foie itératives pratiquées chez des chiens, ayant reçu ces émulsions, montrent la persistance des FC au bout de trois ans. Ils ne sont retrouvés ni dans les urines, ni dans l'air expiré.

- Les composés fluorés " SRE-phobes " ex: la perfluorodécaline, perfluorométhyldecaline, qui après avoir été captées dans le foie et la rate en sont éliminées au bout de trois semaines (voir figure 6).

Si on analyse l'air expiré par les animaux par chromatographie gazeuse, on retrouve le FC injecté non modifié.

La captation hépatique commence presque aussitôt pour

tous les FC , elle est maximum au bout de cinq jours; c'est à ce moment qu'apparaît la différence de comportement des FC , les uns restant dans le foie, les autres étant éliminés.

L'étude de la figure 7 montre:

- que cette captation hépatique est de l'ordre de 55% pour le FC-43, 42% pour la fluorodécaline (FDC).

- Que l'évolution de ce stockage hépatique est variable :

- selon le FC: décroissance rapide en ce qui concerne la FDC,

- selon la quantité de FC injectée:

- . La décroissance est d'autant plus rapide que la quantité de FDC injectée est plus faible,

- . pour le FC-47 (tableau 4) en émulsion. à 15,5%, 20% de la dose injectée sont présents à 36 mois, en émulsion. à 26%, 32% sont présents à 52 mois.

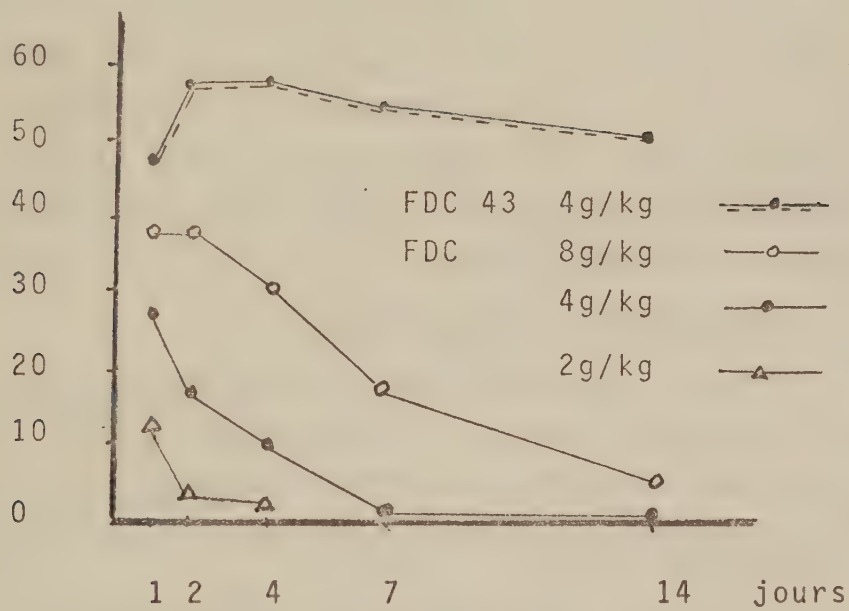
Si on analyse les urines des animaux, il en existe de très faibles quantités dans le cas du PP5 uniquement, qui sont dûes probablement plus à la diffusion tissulaire qu'à la filtration glomérulaire.

L'excrétion des FC sous forme de vapeur se fait essentiellement par les poumons, mais également par la peau, seuls certains FC possèdent cette propriété (FC-80, PP5, PP9). YOKOYAMA a complété cette étude en mesurant les taux de FC persistant dans le foie, la rate, les reins et les poumons: s'il confirme la persistance des composés type FC-43, FREON E4, et PP9, quatre semaines après l'injection d'émulsions comportant des lécithines du jaune d'oeuf comme surfactant, à la dose de 4 g par Kg de poids de FC, il infirme l'hypothèse d'une rétention dans d'autres organes comme le poumon et le rein, quel que soit le FC utilisé (FC-43-PP5-E4-PP9).

b- La détermination de la demi-vie plasmatique
(20-123) voir figure 8-

Elle montre que la demi-vie plasmatique des émulsions de FC-43 ou de FDC se situe autour de 48 heures; la disparition des

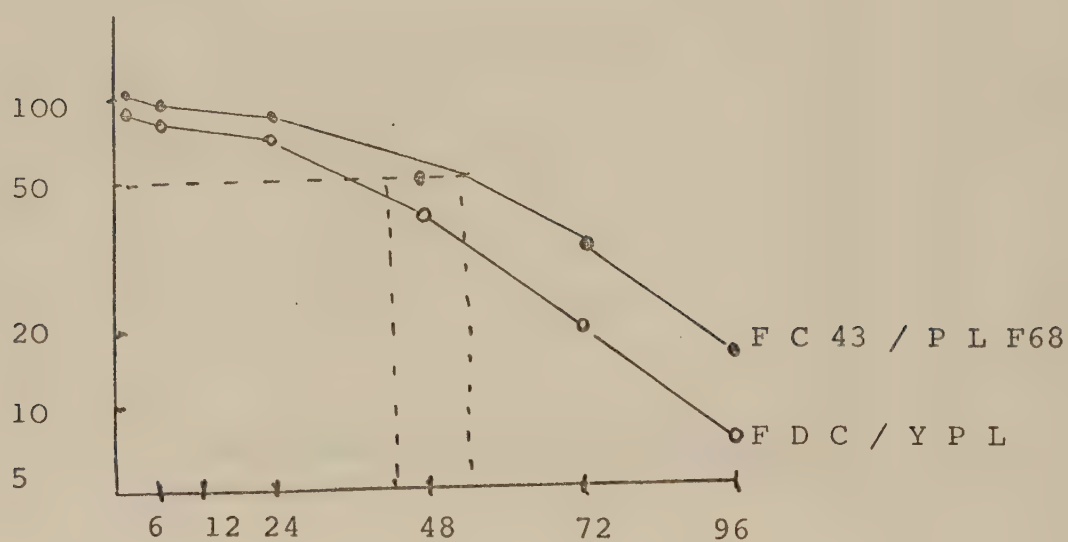
% dose injectée



EVOLUTION DES CONCENTRATIONS DE LA PERFLUORODECALINE (FDC) ET
DU FC 43 DANS LE FOIE DE RATS AYANT RECU L'EMULSION IV EN %
DE LA DOSE INJECTEE.

Fig 7

% dose injectée



ETUDE DE LA DECROISSANCE PLASMATIQUE DES 2 EMULSIONS :

- FLUORODECALINE (FDC) LECITHINES DU JAUNE D'OEUF (YPL)
- FC 43 , PLUORONIC F 68

Fig 8

selon YOKOYAMA

FC du torrent circulatoire commençant dès leur administration.

c- Etude histologique en microscopie optique et électronique.

- L'aspect macroscopique au niveau du foie confirme déjà le dépôt de FC: hépatomégalie, vaisseaux bordés de blanc sur les coupes,
 - sur les biopsies de foie, les particules de FC sont retrouvées dans les macrophages du tissu conjonctif périportal et sous capsulaire. Cette captation explique la diminution du pouvoir d'épuration de l'encre de chine. Cet aspect est retrouvé identique sur les biopsies prélevées 36 mois après l'administration intra-veineuse des FC de la première génération. Par contre, seize semaines après l'administration de PP5, on ne retrouve plus cet aspect de phagocytose des micelles, ce qui témoigne de leur élimination.

Les FC sont retrouvés dans les macrophages et les cellules de Küpffer, mais également dans les hépatocytes. L'étude au microscope électronique montre peu d'altération structurale de ces cellules, autre que la présence d'une membrane limitant les particules, dont la nature est discutée (lysosomiale? (92))

d- Analyse des gaz expirés.

Nous l'avons déjà dit, alors que le FC-47 n'est jamais retrouvé dans le gaz expiré, les perfluorocyclocarbures sont éliminés par la voie pulmonaire sous forme inchangée. Cette vaporisation peut être multipliée par trois lorsqu'on augmente la température.

Elle augmente progressivement avec le temps et persiste encore au 12ème jour qui suit l'injection intra-veineuse.

2°- Après introduction par voie intra-péritonéale.

Peu de modifications sont observées après administration intra-péritonéale (IP) chez la souris, de FX-80, Caroxine D, FC-47; et la DL_{50} est élevée, ce qui laisse supposer que le

FC est assez peu absorbé par cette voie. (32, 73).

17 à 19 mois après injection sous cutanée chez la souris, les concentrations sont basses , de l'ordre de 1 ppm (73), des prélèvements ont été effectués au niveau du cerveau, du poumon, foie, reins, rate, graisse; c'est au niveau de cette dernière que les concentrations sont les plus élevées (bien entendu , il n'y a pas eu de prélèvement au niveau de la cavité abdominale); quel que soit le FC , les mêmes résultats sont obtenus après injection IP.

Il est difficile de conclure à partir de cette expérimentation en raison de l'absence de prélèvements précoces:

- soit le FC a été absorbé et éliminé rapidement, sans effet toxique,
- soit il a été peu absorbé. Etant donné la lenteur d'élimination de la Caroxine D prouvée par d'autres expériences , cette dernière hypothèse est la plus probable.

3°- Après introduction par voie pulmonaire chez des animaux immergés dans du FC pur ou respirant du FC pur.

Ainsi MODELL (73) a ventilé 28 chiens pendant une heure avec la Caroxine D (tension de vapeur 13).

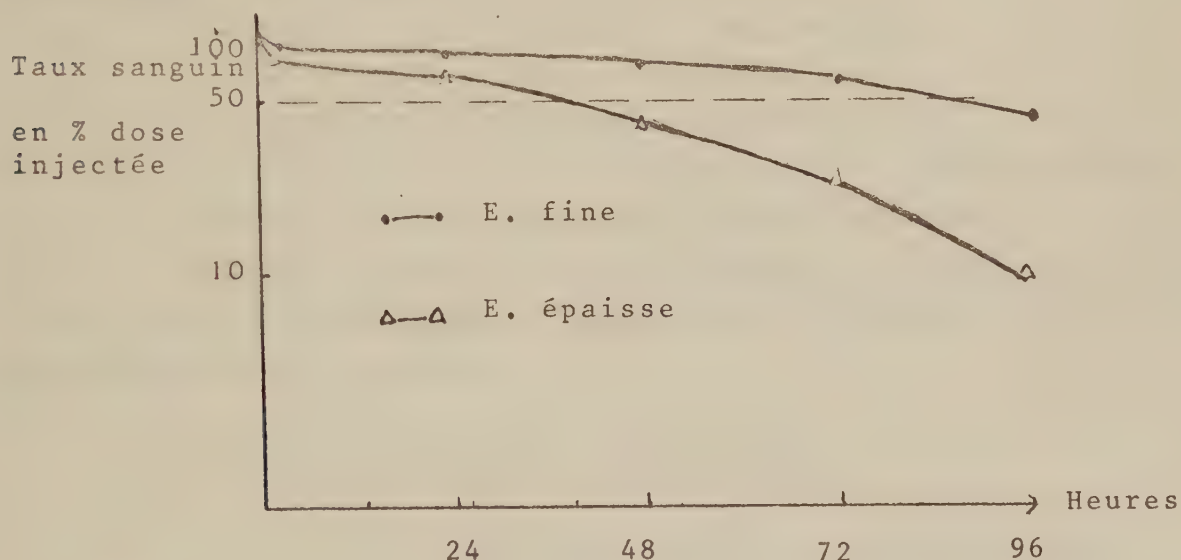
Les animaux ont été sacrifiés entre 20 et 23 mois après la ventilation. Les concentrations dans les différents tissus, foie, rate, reins, muscles, sont très basses, la concentration est un peu plus élevée dans la graisse. On note la présence de macrophages contenant des particules de FC..

Bien entendu les concentrations pulmonaires sont très élevées. Cette expérience prouve que les FC introduits par voie pulmonaire sont absorbés en faibles quantités; la concentration plus importante dans la graisse suggère qu'ils possèdent un coefficient de solubilité élevé dans l'huile.

C- LES RELATIONS STRUCTURE-METABOLISME.1°- Relation entre la demi-vie et la taille des micelles.
(123-35).

Plus les micelles sont grosses, plus rapidement intervient la captation par le système réticulo-endothélial comme en témoigne l'injection de 5 g par Kg de poids d'une émulsion fine, qui ne modifie pas l'index granulopexique, alors que l'injection d'une émulsion à grosses micelles entraîne le blocage du SRE une heure après l'injection.

Par conséquent, la demi-vie plasmatique, des émulsions de FC sera d'autant plus longue que la taille des particules sera faible, c'est ce que montre la figure suivante: la demi-vie plasmatique varie de 40 à 96 heures selon la taille des micelles.



Effets de la taille des particules sur la demi-vie plasmatique après injection de 12 g par Kg chez le lapin d'une émulsion de FC 43 /Pluronic .

- une émulsion à petites particules correspond à un diamètre moyen de 0,1 micron,
 - une émulsion à grosses particules , à un diamètre supérieur ou égal à 0,4 micron
- Figure 9

2°- La relation tension de vapeur-métabolisme.

On a mis en évidence l'existence de deux familles dans les FC, ayant des destins différents :

a- Les FC type FC-47 persistent longtemps, voire indéfiniment dans le foie. Par ailleurs, on n'en retrouve jamais dans l'air expiré.

b- Les FC tels Fluorodécaline, Fréon E4, sont au contraire rapidement relargués par le foie et retrouvés en quantités importantes dans l'air expiré.

Certains auteurs ont alors conclu (21-24-123) que l'élimination par voie respiratoire étant proportionnelle à la tension de vapeur à 37° C (voir figure 10), les substances ayant une tension de vapeur élevée (vp) (inférieure cependant à 50 torr car risque d'embolie gazeuse au dessus) auraient une rétention hépatique courte, les composés ayant une vp basse n'étant que lentement relargués.

Cela se vérifie :

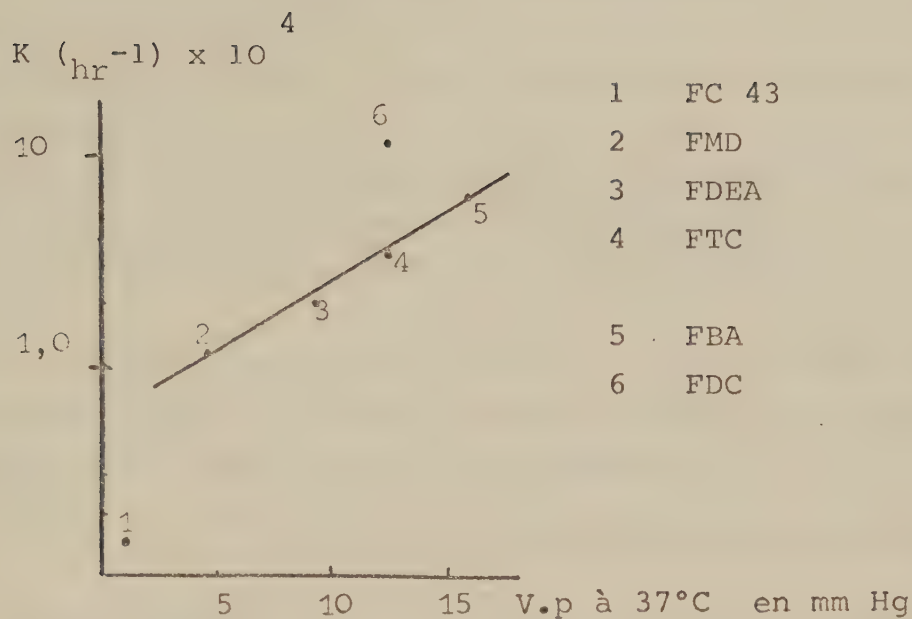
- pour les FC-43, (vp 2, rétention prolongée)
 - pour le FC-75 (vp 51, pas de rétention),
 - la perfluorodécaline (vp 14, pas de rétention),
- mais cela n'est pas le cas de la Caroxine D , qui malgré une vp à 13, persiste dans l'organisme plusieurs années.

On peut en conclure que ce facteur de la vp, s'il intervient dans la rapidité avec laquelle un FC quitte le foie, n'est probablement pas le seul.

3°- Relation structure-métabolisme.

a- Intervention de la nature chimique.

L'analyse de la structure des différents FC montre que les produits rapidement éliminés malgré une basse vp sont les FC complètement fluorés, alors que les autres possèdent soit un hétéroatome comme O et N, soit d'autres halogènes ou des atomes d'H ou une insaturation (voir tableaux 1 et 2).



RELATION ENTRE LA CONSTANTE DE LA VITESSE D'ELIMINATION RESPIRATOIRE DU FC CHEZ DES RATS RECEVANT 4 g/kg DE FC IV ET LA TENSION DE VAPEUR (v.p) DU FC

selon YOKOYAMA

Fig 10

Par rapport aux FC ne contenant que des atomes de fluor (F) et de C, toutes les modifications ci-dessus représentent des points faibles de la molécule (voir structure des FC) introduisant une instabilité :

- l'existence d'une double liaison implique qu'elle peut être facilement rompue,
- l'existence d'un doublet électronique insaturé sur les hétéroatomes favorise également une liaison éventuelle,
- enfin, les liaisons C-H ou C-O sont moins solides que les liaisons C-F.

Si l'on peut envisager ainsi une liaison éventuelle de ces composés avec certains constituants du foie, aucun argument expérimental n'est venu étayer cette hypothèse.

b- Intervention de la propriété lipophile des FC.

D'après ULLRICH et DIEHL (119) la rétention dans l'organisme serait en rapport avec les propriétés lipophiles des FC.

Ils ont travaillé in vitro sur les perfluorohexanes et les microsomes hépatiques. Le perfluorohexane subit une rétention dans l'organisme. Si les auteurs n'observent pas de rupture de la liaison C-F, ils rapportent la formation d'un complexe fluorocarbure-cytochrome P₄₅₀, type complexe enzyme-substrat.

Le FC ne subit aucune hydroxylation; cependant la formation du complexe entraîne l'oxydation du NADPH et l'augmentation de la consommation d'oxygène par le cytochrome, du fait du découplage transfert d'électrons-monooxydation.

Le FC agit ainsi comme un inhibiteur du système d'oxydation microsomial.

Les travaux de TRINER (117) étaient en accord avec cette action (augmentation de la néoglycogénèse et de la consommation d'oxygène x 2 au niveau perfusé par les FC). Par contre, cette augmentation de la consommation d'oxygène n'a pas été retrouvée par d'autres auteurs (40).

Il ne semble pas y avoir eu de nouveaux travaux confirmant ceux d'ULLRICH.

D- ACTION DE L'ORGANISME SUR L'EMULSION.

Après introduction des émulsions dans l'organisme, CLARK (20) a décrit une augmentation de la taille des micelles dans certains cas : des émulsions initialement trop fines pour que les FC puissent être séparés par centrifugation, commencent à être centrifugeables après passage de quelques heures dans le flux sanguin.

Plutôt que d'un effet de l'organisme sur l'émulsion, il est probable qu'il s'agit certainement de mauvaises émulsions, instables.

En conclusion, un certain nombres d'inconnues persistent, en ce qui concerne le métabolisme des FC dans l'organisme ; si les FC ne semblent subir aucun catabolisme, on est moins sûr de l'absence de retentissement des FC sur certains constituants de l'organisme, en particulier au niveau du foie. On discute de la responsabilité éventuelle de la structure chimique du FC dans la rétention hépatique, en dehors du rôle admis par tous de la vp du composé.

TOXICITE

L'inertie et la faible viscosité des FC avait laissé espérer une parfaite tolérance dans l'organisme. Il n'en est malheureusement rien, encore convient-il de distinguer les produits purs des émulsions, et les expérimentations in vitro et les perfusions d'organes isolés des expériences in vivo.

A- LA TOXICITE DES FC PURS.

1°- Etude in vitro.

a- Action des FC sur le sang. (77 bis-)

L'étude comparative d'échantillons de sang frais humain hépariné et incubé à 37° C pendant 24 heures avec et sans FC, ne révèle aucune modification significative des différents paramètres étudiés : taux d'hémoglobine, fibrinogène, électrophorèse des protéines, hématocrite, numération des GR; GB, plaquettes). La morphologie cellulaire n'est pas non plus altérée.

Les FC testés comprenaient le FX80 et le FC47.

Cette expérimentation montre que ces FC et donc par extrapolation tous les FC, sont dépourvus de toxicité sanguine in vitro, n'entraînant en particulier ni hémolyse, ni modification des protéines.

b- La présence de FC n'inhibe pas le transfert d'ions H^+ par la muqueuse gastrique de cobaye.

c- Les expériences de cultures de cellules en présence de FC (GEYER , 32) confirment l'absence de toxicité

cellulaire directe des FC purs.

2) Etude in vivo.

a- L'administration intra péritonéale chez des rats est assez bien supportée, puisque d'après les données de SARGENT (99), la DL 50 est bien supérieure à la DL 50 par voie intra-veineuse.

Le FC 75 est plus toxique que le FC 47, en raison de la découverte de gaz intra-péritonéal après injection IP ; la présence de ces bulles de gaz est rapportée à la vaporisation du FC 75 à 37° C.

MODELL (73) confirme que l'administration IP ou SC de FX 80 et de Caroxine D n'entraîne aucune modification du comportement ou du poids des souris d'expérience, hormis la distension abdominale liée à des poches de gaz chez les animaux ayant reçu le FX 80.

Enfin, GEYER (34) rapporte que l'injection IP des FC est bien supportée même à la dose de 3 à 4 ml pour 100 g de poids.

Tous ces phénomènes témoignent en fait de la faible absorption des FC par cette voie.

b- L'administration intra vasculaire de FC pur révèle en effet une toxicité importante.

La létalité varie cependant avec le mode d'administration, l'espèce étudiée et le FC utilisé.

Chez le chien, (NOSE - 77 bis) une dose unique de FX 80 de 0, 01 ml/Kg tue l'animal en moins de 48 heures, alors qu'il faut environ 0,8 ml/Kg de FC 43 pour le même effet. L'administration de FC 43 à raison de 0,4 ml/Kg trois fois par semaine entraîne la mort des chiens dans un délai de 5 à 98 jours ; l'un d'entre eux a survécu définitivement après 110 jours de traitement ; pour les chiens décédés rapidement, la dose létale de FC 43 à doses fractionnées s'élève à 1,6 ml/Kg (dose unique létale : 0,8).

Sur les douze paramètres sanguins mesurés (phosphatases alcalines, bilirubine, urée, acide urique, glucose, albumine, cholestérol, SGOT , LDH, numération des GR, GB, plaquettes et TC), on note seulement, vers la 5ème-6ème heure après l'injection, l'augmentation discrète des transaminases, des LDH et des leucocytes, et chez un animal ayant survécu suffisamment, on note une anémie modérée sans signe d'hémolyse.

L'injection intra-aortique de 0,4 ml/Kg de FC 43 entraîne l'apparition immédiate de crises convulsives généralisées, et un coma mortel en moins de 20 heures.

L'étude de l'hémolyse in vivo chez 6 chiens par utilisation de l'oxygénateur liquide-liquide D'ABCOR , dans lequel sang et FC sont en contact sans intermédiaire, montre que le taux d'hémoglobine n'est pas modifié au bout de 5 heures de CEC.

L'étude de la microcirculation capillaire au niveau des artérioles mésentériques in vivo, par exposition d'une anse grêle montre le blocage circulatoire complet par embolisation de gouttelettes de FC.

L'autopsie chez les chiens après injection intra-veineuse montre habituellement :

- des lésions pulmonaires avec poumons hémorragiques et congestifs, les lésions histologiques rappelant les lésions pulmonaires d'origine toxique (Mendelson); chez un chien ayant survécu plus de 10 jours, on notait des foyers de fibrose interstitielle, le chien ayant survécu 98 jours présentait un aspect de pneumonie lipidique chronique avec réaction granulomateuse en foyers.

- La présence de thrombus récents dans les artères pulmonaires, et la dilatation des cavités droites,

par contre le foie, la rate et les reins sont macroscopiquement sub-normaux sans lésion histologique autre que non spécifique (hyperhémie).

Les mécanismes physiopathologiques des lésions pulmonaires observées sont au nombre de quatre :

- si l'on peut admettre la réalité de l'obstruction mécanique des capillaires par les gouttelettes de FC pur, en raison des études sur la microcirculation,
- si l'on ne peut nier la possibilité d'embolie gazeuse intravasculaire, en raison des bulles de gaz constatées au niveau du poumon , du péritoine, et des gros vaisseaux.
- par contre, l'existence d'une coagulation intravasculaire (CIV) induite par le FC, reposant sur la constatation des thromboses intravasculaires ,qu'elles soient primitives, ou secondaires au ralentissement du flux sanguin par hyperviscosité, n'est qu'une hypothèse.
- De même que la possibilité d'un effet toxique direct sur le métabolisme de l'organisme.

c- Administration par voie pulmonaire de FC pur:

Elle a été effectuée essentiellement par MODELL et son équipe (70, 71,73) et KYLSTRA (55) au cours d'essai\$de respiration liquidienne de type branchial. Il s'agit soit d'immerger complètement de petits animaux, telles des souris, dans du FC pur oxygéné , soit de réaliser une ventilation par gravité , en déplaçant un récipient de FC relié à la trachée des animaux, soit de réaliser la ventilation liquidienne d'un poumon excisé puis réimplanté (62).

Tous les animaux présentent des lésions pulmonaires secondaires à cette ventilation liquidienne. Les premières expérimentations (PATEL-82, CLARK-18) aboutissaient à la mort de certains animaux immergés seulement 10 minutes dans le FC, sans que les lésions pulmonaires observées soient plus importantes que chez les animaux survivants; ceux-ci guérissent sans séquelle apparente.

Les lésions pulmonaires observées varient avec le FC utilisé, le temps écoulé entre la sortie du liquide et la mort, mais elles sont indépendantes de la durée de l'immersion.

Des lésions pulmonaires non spécifiques ont été retrouvées par tous les auteurs:

- foyers d'atélectasie
- oedèmes péri-vasculaires
- margination des polynucléaires avec infiltration dans les septas et les alvéoles collabées,
- hémorragies intra-alvéolaires et septales .

L'ensemble de ces lésions témoigne d'une réaction inflammatoire aiguë exsudative survenant à la phase précoce (apparaissant dès la troisième heure après la fin de la ventilation). Au bout de trois jours, elle s'atténue et on note alors l'apparition de macrophages vacuolés intra-alvéolaires, contenant du FC, qui disparaissent peu à peu.

Par contre, d'autres lésions sont inconstantes, variant:

- selon le type de FC (96)
- selon le mode d'expérimentation (70).

Il s'agit de lésions de type emphysémateux avec distension des alvéoles, dilatation des bronchioles de plus petit calibre, voire même rupture des cloisons inter-alvéolaires; ces lésions sont retrouvées uniquement lors de l'utilisation du FX 80, ce qui s'explique aisément par sa vaporisation à 37° C.

Cependant pour MODELL (70), plus que la vp du FX 80, intervient la valeur des pressions d'insufflation: il retrouve ces lésions après utilisation du FX 80, uniquement lorsque les pressions intra-trachéales sont comprises entre 50 et 70 torr.

Que ces lésions inflammatoires aiguës soient secondaires à la distension forcée des alvéoles, et donc d'origine traumatique, ou liées à la présence d'impuretés ou d'isomères toxiques dans les FC utilisés, elles disparaissent sans séquelles :

- cliniques , ni gazométriques
- ni histologiques: onⁿ observe jamais de foyers de fibrose sur les prélèvements tardifs, la réaction inflammatoire a complètement disparu, seuls persistent les macrophages contenant les FC retrouvés un an après la ventilation avec les Caroxines D et F.

La surveillance de divers paramètres biochimiques et hématologiques ne montre pas de modifications significatives, hormis l'augmentation des SGOT pendant 24 heures, des SGPT pendant 72 heures et des LDH. Celle-ci fait poser la question de lésions hépatiques, mais l'examen histologique du foie ne montre pas de lésion (non plus que dans la rate, coeur, cerveau, reins) (CALDERWOOD -15).

En fait, ces enzymes sont susceptibles de se modifier rapidement chez l'animal utilisé, en l'occurrence le chien, selon les conditions biologiques : leur élévation peut être imputée à divers facteurs, comme l'anesthésie, l'acidose respiratoire.

La toxicité métabolique.

C'est essentiellement SPITZER (113-114) qui a étudié les effets de la respiration liquidienne sur le métabolisme tissulaire. Ces études menées chez des souris totalement immergées dans du FX 80 montrent :

- une diminution de l'incorporation du $^{32}\text{PO}_4$ dans l'ATP et le RNA du foie.

- une diminution de l'incorporation du $^{32}\text{PO}_4$ et de la ^3H méthylcholine dans les phospholipides non seulement du foie, mais également du cerveau, du rein, du poumon.

Si l'hypothermie joue un rôle dans ces modifications métaboliques, elle n'est pas le seul facteur (souris de contrôle).

Des travaux ultérieurs toujours menés par SPITZER chez la souris immergée dans le FC 47 concluaient à une altération significative du métabolisme hépatique uniquement, l'incorporation de la méthylcholine marquée dans la lécithine étant réduite de 30 %.

Des expériences in vitro ont essayé de déterminer si des systèmes spécifiques étaient atteints par le FC : le FC 47 à la concentration de 0,4 % stimulerait l'ATPase $\text{Na}^+ \text{K}^+$, intervenant dans le transfert membranaire. Il pourrait donc jouer un rôle toxique au niveau des membranes cellulaires ; or certains ont trouvé une accumulation de FC dans le tissu graisseux, ce qui peut

faire supposer qu'il y a une concentration importante au niveau de la double couche lipidique membranaire.

Il ne s'agit pas d'un effet toxique direct , en effet une préparation de fluorocytes n'a aucun effet sur l'ATPase sodium potassium isolé du cerveau de grenouille.

RUFER (94) a poursuivi des investigations similaires chez des porcs nains nouveaux-nés immatures, ventilés par le FX 80 selon le principe du poumon d'acier. Il ne retrouve pas de diminution de l'incorporation de la méthylcholine marquée dans la lécithine du poumon.

Ces modifications métaboliques sont à mettre probablement sur le compte des conditions d'expériences: en effet, les animaux de RUFER sont ventilés correctement et en normothermie, alors que les souris immergées hypothermiques (20° C) présentent de plus une acidose respiratoire majeure.

B- LA TOXICITE DES EMULSIONS DE FC.

Si la tolérance des émulsions est bien meilleure , l'émulsionnement n'a cependant pas résolu tous les problèmes de toxicité qui dépend largement des FC ,du surfactant et du mode de préparation.

1°- Toxicité générale.

La DL 50 est bien entendu supérieure à la DL 50 des FC purs (voir tableau 5) . Nous envisagerons la toxicité pulmonaire, hépatique, cardiovasculaire et plaquettaire.

a- Toxicité pulmonaire.

Les poumons représentent l'organe le plus souvent lésé lors de l'administration des émulsions: la mort des animaux est généralement d'origine respiratoire. Les lésions observées sont essentiellement de deux types:

- le syndrome du poumon " distendu" observé avec les émulsions de certains FC(FX 80, Fréon E1, E2.) par différents

D L 50 DES PRODUITS EMPLOYESCLARK 1975

EMULSION	Tension de vapeur à 37°C mm/Hg	DL 50 après infusion en ml/kg		
		1 heure	3 jours	7 jours
10% FC 75 5% F 68	51	> 200	90	< 50
10% FC 47 5% F 68	1	> 200	120	120
10% P 11 D 5% F 68	13	> 200	200	180
10% PP 5 5% F 68	13	> 200	> 200	> 200
10% C8 F185% F 68	50	> 50	31	24
9,2%C8 F17 Br 5% F68	14	> 200	170	160

TABLEAU 5

auteurs (CLARK et GEYER) ; les animaux meurent d'un tableau de détresse respiratoire progressive ; les poumons distendus flottent à la surface du formol, une expression douce entraîne la sortie d'une quantité abondante de mousse.

- Le syndrome comportant des lésions congestives et hémorragiques (77-10-65-110);celles-ci sont plus ou moins importantes visibles soit macroscopiquement , soit uniquement microscopiquement (hémorragies en foyers, congestion passive, infiltrations histiocytaïres avec desquamation des cellules bordantes alvéolaires).

Pour SLOVITER, ces lésions pulmonaires seraient dûes à des embolies pulmonaires, en raison de la distension observée au niveau des gros troncs veineux,du coeur droit et de l'augmentation importante des pressions dans l'artère pulmonaire, enfin des effets des FC sur la coagulation. Il ne s'agit en tout cas pas d'un effet toxique direct , cellulaire ou vasculaire, comme le montrent les expériences de poumon isolé.

Pour GEYER , les lésions pulmonaires sont fonction du type d'émulsion, puisque ses émulsions les plus récentes de FC 47 n'en provoquent pas (du moins pas de façon assez importante pour retentir sur l'hématose), alors que des émulsions connues comme instables de FDC entraînent des lésions pulmonaires avec oedème et épanchement pleural.

b- Toxicité cardiovasculaire.

Si les émulsions de FC n'ont pas d'effet toxique direct sur le coeur ni sur les vaisseaux, si dans les autopsies on n'observe jamais aucune lésion cardiaque, par contre une instabilité tensionnelle a été signalée à plusieurs reprises.

CLARK (20) et MAKI (64) ont constaté en effet que dès le début de la perfusion de l'émulsion de FC 43 ou lors de l'injection I.V. d'une très petite dose (0,05 ml/Kg) chez le chien, la pression artérielle chute brutalement en 30 secondes. Cette chute tensionnelle s'accompagne d'une chute du débit cardiaque ; on note également une élévation de la pression de la veine porte et de celle de l'artère pulmonaire (64).

Une deuxième injection ou la poursuite de la perfusion n'est pas suivie d'un tel effet, ce qui évoque une réaction tachyphylactique. Si on a évoqué une réaction de type anaphylactique lors de la première injection, les antihistaminiques sont incapables de prévenir ou de corriger la chute tensionnelle ; on a soulevé l'hypothèse d'une interaction entre l'émulsion et certains facteurs de la coagulation devant l'effet préventif d'un anticoagulant, ou du remplacement partiel du sang de l'animal par une solution de Ringer.

L'absence de tels phénomènes lors de l'injection de FC purs laisse penser que la qualité de l'émulsion et non le FC lui-même est en cause.

BROWN et HARDISON (12-13) constatent l'élévation de la pression portale, lors de la perfusion de foie de rat par les émulsions de FX 80, survenant vers la 3ème heure ; les lésions histologiques consistent en un oedème tissulaire important et des obstructions vasculaires, avec distension des sinusoides du foie. Cette altération de la circulation hépatique est confirmée par la médiocre distribution des particules d'encre de chine injectée peu avant la fin de la perfusion.

c-Action sur la coagulation.

C'est essentiellement SLOVITER et son équipe (57-108-110-112) qui ont décrit les modifications de la coagulation après injection d'émulsions de FC (FX 80) dès 1970.

Les émulsions de FC injectées par voie I.V. chez les souris, les rats et les lapins entraînent une nette diminution du nombre des plaquettes circulantes sans modification nette du taux de fibrinogène. Des travaux ultérieurs confirment cette thrombopénie et montrent chez certains une hypoprothrombinémie, une diminution du taux des facteurs X, XI, XII, et une augmentation significative des produits de dégradation de la fibrine. Ces lapins meurent tous 3 à 8 heures après l'administration d'émulsions (2 à 3 ml/Kg) dans un tableau d'hypoxie.

In vitro, l'incubation de l'émulsion de FC 80 avec du

plasma riche en plaquettes n'est suivie d'aucun effet toxique, éliminant donc un effet toxique direct du FC sur les plaquettes.

Si les modifications rapportées ci-dessus évoquent une CIV, si la bonne tolérance des émulsions chez la grenouille est expliquée par l'absence de plaquettes, il n'y a pas de preuve formelle que la mort des animaux soit liée à ces troubles, aucune thrombose n'ayant été retrouvée à l'autopsie.

d- Toxicité hépatique.

En raison de la rétention préférentielle des FC injectés par voie I.V. dans le foie, la question se pose d'une toxicité éventuelle.

Nous avons vu que si BROWN et HARDISON, utilisant une émulsion de FX 80, rapportent des altérations tissulaires comportant oedème, ballonnement des sinusoides, CLARK (25) ne retrouve jamais de réaction inflammatoire sur les biopsies, même les plus tardives. Seuls persistent les macrophages contenant les fluorocarbures. Cependant, pour ROSENBLUM (92) il existe des foyers inflammatoires hépatiques sur toutes les coupes histologiques, avec tous les FC. Il n'y a cependant jamais d'évolution vers la fibrose, ni vers la cirrhose, malgré la persistance de lésions inflammatoires des mois après l'injection.

La disparition progressive des macrophages contenant les FC peut s'expliquer:

- soit par une vaporisation progressive .
- Par la libération de FC lorsque les cellules meurent.
- L'hypothèse d'une excrétion active a été soulevée par CLARK pour la FDC qui présente une analogie structurale avec les stéroïdes.

Les lésions inflammatoires observées par ROSENBLUM sont fonction du type de FC (moindre avec la FDC) , de la dose injectée, et du délai entre l'injection et l'examen.

2°- La toxicité métabolique.

Si pour la plupart des auteurs, la toxicité relève d'altérations de la microcirculation des organes cibles par divers méca-

nismes (CIV , embolie gazeuse, augmentation de la taille des particules, caractéristiques du flux), certains ont incriminé un effet toxique des FC sur différents métabolismes:

- qu'il s'agisse d'une liaison avec la glycine comme le suggère BROWN (13),
- qu'il s'agisse d'une liaison avec le cytochrome P₄₅₀ (119).

C- FACTEURS DE LA TOXICITE.

Les multiples expérimentations conduites de 1970 à 1975, ont permis de dégager un certain nombre de relations, entre la toxicité des émulsions et divers facteurs incluant certains caractères physico-chimiques des FC et certaines caractéristiques de l'émulsion. Ce sont ces relations que nous allons envisager ici..

1°- Rapport toxicité- propriétés physico-chimiques .

a- La tension de vapeur (vp). (19-32).voir tableau 5.

L'administration d'émulsions de FC dont la vp est supérieure à 50 mm de mercure (FC 75 , E2) entraîne la mort par embolie gazeuse pulmonaire. La DL 50 est basse , le tableau est différent selon la dose injectée (25): à dose modérée, la mort survient dans un délai de quelques heures à quelques jours, dans un tableau de détresse respiratoire. Les poumons sont distendus et des bulles de gaz sont retrouvées dans la circulation, à la dose de 50 ml/kg , une émulsion de FC 75 entraîne la mort en quatre heures, et 1 litre et demi de gaz est retiré du coeur droit.

Il ne se produit pas d'embolie gazeuse si l'animal respire une atmosphère contenant du FC 75 sous forme de gaz (25-100), ou si l'animal est en hypothermie.

A doses modérées, la cause d'embolie gazeuse est donc due

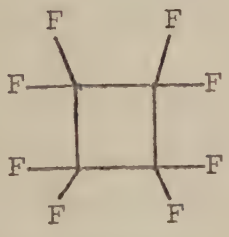
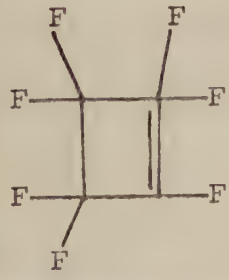
à l'inégalité des pressions partielles de FC 75 de part et d'autre de la membrane alvéolaire, avec pression totale des gaz dans le sang supérieur à la pression atmosphérique.

Il faut cependant noter que SLOVITER et ROSENBLUM (90) n'ont pas retrouvé de lésions évoquant la vaporisation du F C 75.

La diminution de la vp prévient ces complications, l'augmentation du point d'ébullition par chlorination, bromination et iodination augmente la DL 50.

b- Rapport toxicité-structure du FC.

L'introduction, dans la molécule d'un FC complètement saturé ne comportant que des atomes de carbone et de fluor, soit d'une double liaison, soit d'un hétéroatome O ou N, soit d'une insaturation, est capable de lui conférer une grande toxicité (voir figure ci-dessous, selon DIXON-27).

Structure	Vol., %	Temps d'exposition	Animal
$\text{CF}_3\text{-CF}_3$	> 80	4	Rat
$\text{CF}_2\text{-CF}_2$	4	4	Rat
	> 80	4	Rat
	0,02	0,05	Rat

Toxicité aigue par inhalation
des perfluorocarbures et perfluoralkanes

Tableau 6

Il est possible que ces points faibles favorisent la rupture de la molécule, soit lors de la formation de l'émulsion, soit lors de l'introduction dans l'organisme, avec formation de produits toxiques.

2°- Rapport toxicité caractères de l'émulsion.

a- La taille des micelles .

Est l'élément capital. Elle intervient:

- dans la viscosité,
- dans la stabilité des émulsions formées,
- dans leurs qualités biologiques:

. DL 50 .

La toxicité aiguë est plus importante quand la taille des particules d'une émulsion de FC 43 /PF 68 est supérieure ou égale à 0,4 microns. En effet, la DL 50 passe de 11,5 g par Kg pour ces émulsions à 30 g /Kg pour les émulsions ayant des particules de 0,1 micron (31).

. La toxicité sub aiguë.

Les émulsions fines :

- modifient moins les paramètres sanguins que les émulsions à grosses micelles (hémocrite , rapport albumine/ globuline),

- sont beaucoup mieux supportées au point de vue général. La figure ci-dessous étudie l'effet sur la courbe de poids d'une émulsion à micelles de 0,09 μ et d'une émulsion à 0,2 micron . Il s'agit de rats Wistar recevant une émulsion de FC 43 à raison de 10 injections en 15 jours par la veine de la queue.

Poids du corps en g

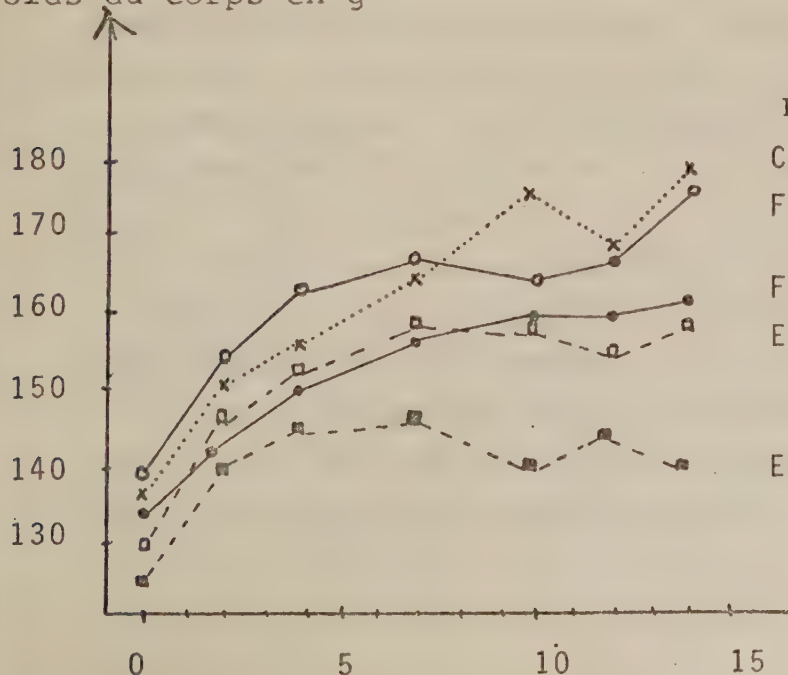


Fig 1

Contrôle sérum salé x—x

Fine , 2 g/kg ○—○

Fine , 4 g/kg ●—●

Epaisse, 2 g/kg □—□

Epaisse, 4g/kg ■—■

jours

b- Le caractère de pureté du FC.

Certains FC comme le FX 80 sont des mélanges de plusieurs isomères; or les émulsions ne présentant qu'un seul pic à la chromatographie gazeuse, sont moins toxiques que les mélanges. Il est possible de purifier un mélange par distillation sur colonne .

c- La nature de l'émulsionnant.

Intervient dans la toxicité de l'émulsion en fonction du type et de la dose de surfactant.

Ainsi, le PF 68 en solution à 20% injecté à raison de 50 ml/kg entraine des convulsions et la mort en quelques heures, même après filtration d'impuretés éventuelles, tandis qu'il est bien toléré à une concentration de 5% , à la dose de 30 à 50 ml/Kg.

Pour CLARK, la toxicité est due plus à la libération d'ions fluor qu'au PF 68.

GEYER propose un émulsionnement en atmosphère de CO₂ , afin d'éviter l'oxydation éventuelle du PF 68.

Les rapports respectifs de la concentration de PF 68 et de FC jouent dans l'épaisseur du film de surfactant autour de la micelle de FC: un film trop épais pouvant gêner la diffusion de l'oxygène.

Le PF 68 a été également accusé d'entraîner des troubles de la coagulation: d'après HENRY (44) , il agit comme un anticoagulant faible et il diminue l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP; à doses faibles, il se comporte comme un facteur anti-Hageman , et anti-facteur VIII. Selon CLARK, (20) il peut conduire chez le chien à une diathèse hémorragique massive, quand il est administré à des doses de 50 ml/kg en émulsions à 10%. Cette activité anticoagulante est-elle liée au PF 68 lui-même, ou à des impuretés? La filtration préalable réduit ces troubles de coagulation.

L'utilisation par CLARK d'un surfactant fluorochimique, l'ASA , n'a pas été couronné de succès , le produit s'étant révélé toxique à des concentrations faibles de l'ordre de 0,3%.

d- Le mode de préparation.

L'émulsionnement par procédé mécanique ou les ultrasons entraîne la libération d'ions fluor.

- Après passage sur résines échangeuses d'ions, la DL 50 des émulsions de FC 10% / Pluronic 5% augmente des 2/3 à 7 jours, tandis que la concentration en ions fluor passe de 70 à 1 ppm.

- Si la toxicité du fluor ne fait pas de doute, le mécanisme fait intervenir :

- une toxicité cardiaque éventuelle ; le méthoxyflurane, gaz anesthésique fluoré, libérerait lors de son catabolisme des quantités d'ion fluor, peut-être responsables de la toxicité cardiaque de ce produit: troubles du rythme, bradycardie.

- Une toxicité neurologique : il entre dans la composition des gaz de combat, agissant sur les centres nerveux.

- Au point de vue mécanisme d'action enzymatique, le fluor inhibe l'énolase (enzyme de la glycolyse aérobie). Son action inhibitrice s'exerce à la concentration de 10^{-2}

moles, probablement par formation d'un fluorophosphate, attaché au site actif de l'enzyme.

- Le fait que du fluor soit libéré laisse penser qu'un certain nombre d'autres composés peuvent être libérés et exercer leurs effets propres.

Enfin, les émulsions, dont la pression osmotique et colloïde, est étroitement ajustée aux valeurs physiologiques, se révèlent peu toxique.

e- Les caractères de l'écoulement de l'émulsion dans les vaisseaux.

GEYER (34) s'est tout particulièrement intéressé au problème de l'écoulement; l'addition d'amidon hydroxyéthylé dans l'émulsion a d'ailleurs le double but de développer une pression colloïde et de modifier les caractères de l'écoulement.

Bien que les particules soient très petites, il semble que le flux ne soit pas turbulent; l'émulsion s'écoule sans turbulence latérale sur le mode de flux laminaire, avec débit important au centre du flux, mais stagnation périphérique d'où la mauvaise diffusion de l'oxygène en périphérie.

Conclusions:

les expérimentations poursuivies depuis 10 ans sur les FC ont abouti à une meilleure connaissance de ceux-ci, de leur métabolisme et de leur toxicité.

La toxicité aiguës des émulsions relèverait peut-être davantage d'une altération de la microcirculation des organes cibles que d'une toxicité propre, à l'échelon intra-cellulaire, des FC. Cette altération de la microcirculation peut reconnaître diverses causes: embolie gazeuse, augmentation de la taille des micelles, CIV induite soit par lésion des plaquettes, soit par lésion de l'endothélium capillaire, caractères du flux laminaire.

Quant à la toxicité chronique elle est encore mal établie.

Un certain nombre de relations, entre, d'une part, la structure, les propriétés physico-chimiques des FC, les caractéristiques de leurs émulsions, et d'autre part, le métabolisme des FC dans l'organisme et leur toxicité se sont dégagés; elles doivent aboutir à la sélection des FC en ce qui concerne la taille des micelles intervenant à la fois dans le métabolisme (demi-vie plasmatique) et la toxicité

• la vp du

FC ,

• la nature

de l'émulsionnant, qui joue à la fois dans la stabilité et la toxicité de l'émulsion.

REVUE DES PRINCIPALES EXPERIMENTATIONS
DE LA LITTERATURE

I- LE SANG ARTIFICIEL .

A- La capacité des FC d'assurer le maintien de la vie grâce à leurs capacités de transport de l'oxygène a pu être démontrée:

1°- A l'échelon cellulaire.

Des expériences de cultures de cellules en présence de FC en atmosphère d'O₂ montre que ceux-ci n'altèrent pas la croissance des cellules, au contraire la croissance est accélérée , probablement par augmentation de l'apport en oxygène; ainsi, ajoutés à des cultures de suspension de fibroblastes de souches L (32) pendant des périodes ^{de} trois mois et plus, les FC type FX 80 et FC 43 n'ont développé aucun effet contraire sur la croissance et la morphologie cellulaire. De même la croissance de certaines bactéries est facilitée par un milieu contenant des FC.

2°- A l'échelon tissulaire par la perfusion d'organes isolés.

Celle -ci représente : les premières études tentées avec des FC purs.

-- C'est probablement GOLLAN et CLARK en 1966 qui ont montré les premiers que le coeur isolé d'un rat continuait à battre vigoureusement lorsqu'il était perfusé par un FC pur saturé en oxygène, cependant cette perfusion devait alterner toutes les heures avec celles de sang dilué.

-- L'utilisation d'émulsions de FC a permis de faire de grands progrès.

SLOVITER (107) propose dès 1967 d'utiliser une émulsion de FC 80 dans une solution composée d'albumine bovine et de liquide de Ringer tamponné en bicarbonate, additionnée de glucose dans la proportion de 20 volumes de FC 80 pour cent volumes de solution aqueuse; les micelles étaient de 2 à 3 microns. L'expérience consistait à vérifier la persistance de l'activité électrique d'un cerveau de rat perfusé par cette émulsion en atmos-

phère à 95% d'oxygène, et à la comparer avec celle du cerveau perfusé - par une suspension d'hématies dans la même solution - et par la solution d'albumine seule;

Tandis que la perfusion par la solution seule entraîne l'arrêt de l'activité cérébrale en cinq minutes, la perfusion par les FC en émulsion entraîne sa persistance pendant plus de 2 heures, de façon analogue à la perfusion par la suspension d'érythrocytes. La consommation d'oxygène par le cerveau et donc le passage de l'O₂ dans le sens FC-tissu cérébral est attestée par la différence de la PO₂ entre l'émulsion afférente et l'émulsion efférente, de l'ordre de 200 à 250 mm Hg. Cette différence artério-veineuse chute brutalement à zéro au bout de deux heures en même temps que disparaît l'activité électrique. Enfin, la consommation de glucose et la production de lactate sont comparables dans la perfusion avec FC et celle avec suspension d'érythrocytes.

Les FC sont donc capables de remplacer les érythrocytes dans leur fonction principale.

à réimplanter
LINN et son équipe (60) ont réussi le rein d'un chien après l'avoir perfusé pendant des périodes de 1 à 4 jours avec des solutions fluorocarbonées. Depuis cette époque, de nombreuses expériences de cerveau (91) de foie (41-51-12-13-78-79-40) de rein (60-41-112) et de coeur (123) ont été menées à bien.

a- En ce qui concerne les perfusions de foie.

--KRONE et coll. se basent sur l'étude du relargage, par le foie de rat perfusé, de la phospho-glucose isomérase, de la glutamate oxaloacétate transaminase et de la glutamate déshydrogénase dans le milieu de perfusion; le relargage de la phosphoglucose isomérase témoigne de l'altération fonctionnelle du foie, quand il croît de façon exponentielle.

KRONE a montré que les émulsions de FC 43 / PF 68 étaient capables de subvenir aux besoins fonctionnels hépatiques aussi bien et même mieux que les milieux contenant les globules rouges:

l'altération fonctionnelle hépatique survient avec les milieux contenant les globules rouges vers la 5ème-6ème heure de perfusion, par agrégation vraisemblable des érythrocytes, tandis que les émulsions de FC assurent le maintien d'une fonction hépatique correcte pendant 20 heures.

-- HALL à l'occasion d'étude sur la fonction et la production de protéines transporteuses de la vitamine B12 a utilisé comme milieu de perfusion d'un foie de chien, une émulsion de PP9/PF 68. Il montre la persistance des échanges d'oxygène et de gaz carbonique, et le bon fonctionnement du système récepteur pour la B12 pendant 5 heures. L'examen histologique du foie montre à ce moment, une vacuolisation dans les zones centrales des lobules présentes dès la deuxième heure.

-- BROWN et HARDISON étudient la perfusion du foie de rat par une émulsion de FX 80 à 20% en milieu d'Eagle additionné de 5% d'albumine; l'apport d'oxygène est supérieur à celui d'l sol. d'albumine, la sécrétion de bile ^{mesurée} comme témoin de l'état fonctionnel hépatique, la concentration en potassium témoin de la souffrance cellulaire sont maintenus proches de la normale pendant quelques heures.

-- NOVAKOVA et Coll. utilisent comme critères d'un état fonctionnel hépatique satisfaisant: • l'étude de la synthèse d'albumine par le foie de rat isolé, perfusé par une émulsion de FX 80 10% /lécithine du jaune d'oeuf + albumine.

• L'incorporation de la lysine marquée au carbone 14 dans les protéines circulantes.

Ces deux critères témoignent de la capacité de l'émulsion de FC à remplacer le sang pendant six heures, tandis que tous les autres milieux de perfusion s'en révèlent incapables.

Les auteurs ont comparé diverses émulsions de composés perfluorés, la seule efficace est l'émulsion de FX 80; l'inefficacité des autres émulsions est certainement due à leur instabilité, en effet, un écrémage se produit entraînant probablement une obstruction capillaire.

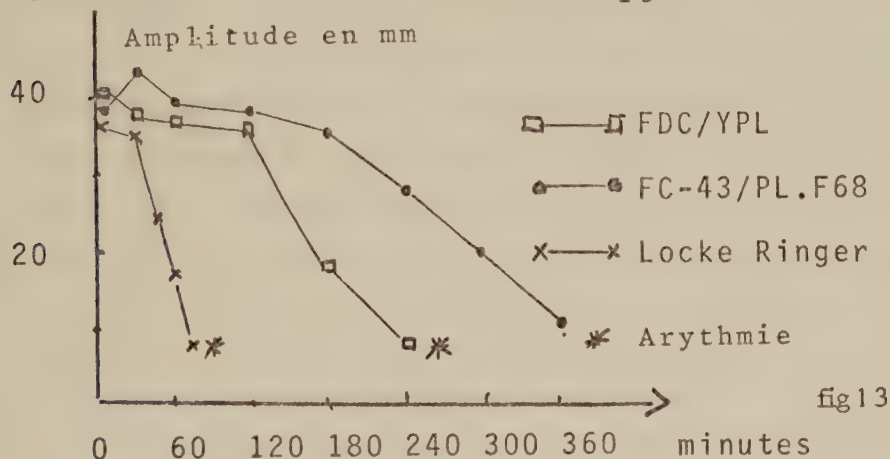
--GOODMAN et PARRILLA utilisant comme milieu de perfusion de foie de rat une émulsion de FC 47 montre que celle-ci est capable de maintenir une fonction hépatique correcte pendant plusieurs

heures avec un débit de 30 ml/mn , sans que soient modifiés ni la consommation d'oxygène, ni l'état redox des mitochondries(rapport lactate/pyruvate , bétahydroxybutyrate /acétoacétate.)

A un débit inférieur à 30 ml/mn, l'émulsion se révèle meilleure que la suspension d'érythrocytes comme transporteur d'oxygène.

b- Perfusion de coeur.

YOKOYAMA réalise la perfusion de coeurs isolés de cobaye par des émulsions de FDC / lécithine , FC 43 /PF 68 , et compare leurs forces de contraction dans ces deux milieux vis à vis d'une solution de Locke-Ringer, les milieux de perfusion étant saturés en oxygène.



La figure ci-dessus montre la supériorité des solutions de FC vis à vis de la solution de Ringer dans le maintien de la force contractile du coeur de cobaye isolé et donc dans le transport d'oxygène.

c- Les expériences de perfusion de rein isolé montrent le maintien d'un état fonctionnel satisfaisant pendant de nombreuses heures , grâce aux émulsions de FC , qu'il s'agisse de PP9 ou FX 80.

Ces expériences de perfusions d'organes isolés prouvent donc la capacité des fluorocarbures à transporter l'oxygène. Le maintien des tissus en vie plusieurs heures sans lésion apparente, outre leur intérêt propre pour la conservation d'organe, et donc la transplantation, laisse penser que la même capacité sera retrouvée au niveau de l'organisme entier.

3) - Au niveau de l'organisme entier.

Que l'administration I.V. de FC soit compatible avec la vie a été prouvée à maintes reprises par les expériences de perfusions d'émulsions en quantités variables, mais sa capacité comme substitut du sang ne peut être véritablement jugée que par le remplacement le plus complet possible du sang d'un animal.

-- C'est ce que GEYER a réussi à réaliser, dès 1968, chez des rats en utilisant le FC 43 émulsionné grâce à un générateur d'ultra-sons ou homogénéisateur mécanique, en présence de Pluronic. Il s'agissait d'une exsanguinotransfusion avec chute de l'hématocrite à 0 et des protéines sériques au-dessous de 2 mg/ml. Les animaux survivaient 4 à 8 heures, pendant lesquelles les auteurs n'observaient aucune modification respiratoire ou comportementale (l'animal se lave, boit, répond aux stimuli sonore et visuel). Cela impliquait qu'aucune lésion grave organique ne se produisait pendant cette période.

L'efficacité du PF 68 dans le maintien d'un volume circulant suffisant est démontrée par la mort des animaux, lorsqu'elle est réalisée par des émulsions sans PF 68.

L'amélioration de la stabilité des émulsions (évitant l'agrégation des micelles) permettait la survie des animaux, régénérant leurs G.R. et leurs protéines, lorsque le remplacement était de 85%.

D'autres modifications furent effectuées au fur et à mesure des expériences:

- adjonction d'amidon hydroxyéthylé, qui permet d'améliorer la pression colloïde et l'écoulement intra-vasculaire.
- Modification de la taille des particules et du film de surfactant.
- Modification du mode d'émulsionnement avec courant de CO₂ durant le passage aux ultra-sons, évitant l'oxydation du PF 68 et la libération d'ions fluor.
- Adaptation étroite de la viscosité à celle du sang (4,5 cs.) et du pH.

GEYER réussissait alors à partir de 1973 des exsanguinotransfusions complètes (EST), avec hématocrite proche de 0,

et protéines également proches de 0 (0,10 mg/ml. L'EST réalisée à la vitesse de 30 ml/heure chez un animal légèrement anesthésié , placé dans une enceinte d'oxygène pur, était suivi du réveil de l'animal , et du retour à l'état normal. La quantité d'émulsion nécessaire pour obtenir un remplacement complet du sang est au moins dix fois supérieure au volume sanguin total, parfois même 16 fois supérieure (GEYER définit le " blood volume équivalent", soit BVE comme cette quantité d'émulsion nécessaire).

Les protéines reviennent à la normale en trois jours, et l'hématocrite en une semaine, les animaux restant en oxygène pur les premiers jours, ce qui pose le problème de la nature du stimulus de l' érythrocytose .

L'étude des gaz du sang a été menée uniquement dans le sang veineux: durant toute la durée de l'EST la PVO₂ reste entre 350 et 400 torr, la PVC₀₂ entre 40 et 45 torr, le pH entre 7,35 et 7,40. Après la fin de l'EST, la PVO₂ baisse lentement jusqu'à environ 190 torr, baisse rapportée par GEYER en partie à l'arrêt de l'administration de l'émulsion saturée en oxygène.

Certains des animaux vivent depuis 2 ans en bonne santé apparente après une croissance normale. Aucune modification pathologique, en particulier du poumon et du foie n'est observée; par contre, s'il utilise une émulsion de PP9/PF-68 , les animaux meurent dans les 40 heures, l'autopsie montre alors des poumons oedémateux et un épanchement pleural.

-- Malgré de nombreux travaux, CLARK (20-21-22-23-24-25) n'a pas rencontré le même succès que GEYER ; à la différence de celui-ci, qui s'est attaché pendant 10 ans à améliorer progressivement une émulsion du même FC, CLARK a utilisé successivement la plupart des FC apparaissant sur le marché, en faisant varier le surfactant (PF-68- surfactant fluoro-chimique-albumine), et le mode d'émulsionnement .

Grâce à ses travaux , un certain nombre de relations structure-toxicité et structure - métabolisme a été établie . Ses recherches actuelles s'orientent vers la mise au point d'une émulsion rapidement éliminée de l'organisme.

Si les perfluoro cyclocarbures sont rapidement éliminés en trois semaines, ils ont l'inconvénient de former avec le PF-68 des émulsions peu stables (36-123). Par contre, la perfluoro-diméthyladamantane possède et l'avantage d'une rapide élimination, et celui d'une bonne stabilité.

Ses expériences consistent à administrer les différentes émulsions à des doses variables , le plus souvent modérées, mais l'hématocrite reste toujours supérieur à 20%, sauf un cas où l'hématocrite était à 6, l'animal ayant survécu en bonne santé.

L'étude des gaz du sang montre le maintien du pH dans une zone normale , une PACO₂ basse, une P $\bar{V}$ O₂ , qui après une augmentation à 250 ml d'Hg en fin de perfusion chute rapidement entre 100 et 70 à l'arrêt de la perfusion. Dans quelques cas, la concentration en O₂ a été mesurée comprise entre 16 et 22 volumes pour cent , cette diminution de la PVO₂ n'est donc pas liée à une diminution de la concentration.

Pour CLARK , cette diminution de la P $\bar{V}$ O₂ n'est donc pas due à la perte de la capacité du FC à transporter l'oxygène, mais à la diminution du débit cardiaque, par analogie aux diminutions du débit cardiaque observées dans les conditions d'hyperbarie où la chute du DC peut aller jusqu'à 30%.

A notre avis cependant , les résultats ^{sont} ininterprétables du fait de la persistance d'un hématocrite supérieur à 20.

L'hypocapnie est à mettre sur le compte des modifications respiratoires induites par une ventilation mécanique au Bennett.

CLARK enfin est le premier à avoir expérimenté les émulsions de FC chez le singe Rhésus (26) ; il a utilisé une émulsion à 10% de PP5 /PF-68 à la dose de 30 ml/kg, soit une dose totale de 130 ml après avoir retiré 73 ml de sang. L'hématocrite est resté supérieur à 23%, le fluorocrite n'a pas dépassé 5%. Cette perfusion a été bien supportée sans modification notable des paramètres biochimiques. L'expérience est pratiquée en atmosphère d'air, aussi n'y a-t-il pas de montée de la PVO₂.

-- YOKOYAMA pratique des échanges répétés de sang avec une émulsion de FDC à 20%/ lécithine du jaune d'oeuf, émulsion très stable, chez des rats Wistar . Le protocole comporte

alternativement une saignée de 1,5 ml/ 100 g et la perfusion d'une quantité équivalente d'émulsion de FC, les animaux étant gardés en atmosphère d'oxygène pur; après dix échanges, représentant le remplacement de 70% du volume sanguin, les animaux meurent dans tous les cas, mais le délai de survie des animaux ayant reçu le FC est supérieur de 10 heures à celui des animaux ayant reçu du plasma homologue, de 16 heures à celui des animaux ayant reçu du Dextran 70.

Ses travaux par ailleurs confirment la rétention hépatique de certains FC et l'élimination rapide d'autres.

-- SLOVITER poursuit depuis 10 ans des recherches sur des émulsions de FX-80 , malgré tout ce que l'on sait actuellement de la toxicité de celui-ci. Les injections d'émulsions de FC-80 injectées à des rats, Hamsters, lapins, chats , chiens et poulets entraînent la mort des animaux en quelques heures d'anoxie progressive. Tentant d'expliquer les lésions pulmonaires observées dans toutes les espèces animales , autres que les grenouilles et les souris, SLOVITER s'est attaché à l'étude de ce syndrome pulmonaire (cf. chapitre sur la toxicité), qui pourrait expliquer la diminution secondaire de la PVO₂. Outre qu'il s'agit de FX-80, les micelles de l'émulsion sont relativement grosses, de l'ordre de 1 micron.

-- ROSENBLUM utilisant également une émulsion de FX-80 chez la souris ne retrouve pas plus que SLOVITER de lésions pulmonaires évoquant la vaporisation du FX-80. Il a abaissé l'hématocrite de souris à 10 à 15% en 100% d'oxygène, la survie des animaux a dépassé 7 heures, tandis que les souris de contrôle ayant reçu du Dextran meurent en 2 heures. A hématocrite identique, la concentration en oxygène du sang des souris contenant du FX-80 est supérieure de 20 à 100% à celui du sang de contrôle.

La vitesse de circulation de la fluoroscéine est normale ou accélérée chez les souris ayant reçu le FX-80.

Cela confirme une fois de plus la capacité de transport de l'oxygène par les FC.

B- CONCLUSIONS.

En conclusion de cette revue des principaux travaux concernant l'utilisation des FC comme sang artificiel, on peut dire qu'ils ont permis grâce en particulier à ceux de CLARK et GEYER, de comprendre pourquoi des expériences, pourtant assez proches, étaient couronnées par des résultats souvent contradictoires. Si GEYER est le seul jusqu'à présent à avoir réussi des EST, il est également le seul à avoir porté toute son attention pendant des années à perfectionner la même émulsion, en particulier en ce qui concerne les caractères du flux s'écoulant dans les vaisseaux, le maintien de la volémie et le rapport de la taille des micelles et du film de surfactant. Il est le seul à utiliser l'amidon hydroxyéthylé, qui représente peut-être un des facteurs possibles de succès.

Si on ne peut nier que GEYER ait réussi à prouver la capacité des FC à se comporter comme un substitut valable du sang, on peut regretter l'absence des données biologiques, en particulier concentration d'oxygène, artérielle et veineuse, débit cardiaque et consommation d'oxygène. Si ces données manquent, dans les expériences où la survie des animaux atteste qu'elles devaient être satisfaisantes, elles font cruellement défaut dans les expériences aboutissant à la mort des animaux, où la multiplicité des facteurs possibles ne peut conduire qu'à des hypothèses. Le seul auteur à notre connaissance à avoir pratiqué des mesures de pression ventriculaire gauche, contenu en oxygène artériel et veineux, consommation d'oxygène, débit cardiaque, n'a pas mis en évidence de différence statistiquement significative entre les lapins dont le sang a été complètement remplacé par une émulsion de FC-43 et les lapins exsanguinés avec une solution colloïde type plasma. Le délai de survie n'excédait pas trente minutes, la mort survenant dans un tableau de dépression myocardique (GOLLAN -39-). La principale erreur a consisté à conduire l'expérience en atmosphère d'air, puisque les émulsions de FC à 20% sont absolument insuffisantes comme transporteur d'oxygène à basse P_{O_2} .

En ce qui concerne les expériences conduites en oxygène pur, on sait que les animaux ne meurent pas d'acidose métabolique, ni respiratoire. En l'absence d'autres données, la cause de la mort ne peut être que supposée:

- lésions pulmonaires,
- non maintien de la volémie,
- non délivrance de l'oxygène aux tissus: soit que les micelles de FC s'agrègent en grosses particules, soit que la couche de surfactant soit trop épaisse, soit que les protéines sanguines même à très faibles doses interviennent au niveau de l'interface, nuisant à la diffusion de l'oxygène.

Seule une grande précision dans la composition des émulsions et dans le déroulement des expérimentations, peut aider à mieux cerner les causes d'insuccès, et à reproduire les expériences de GEYER avec un succès constant.

C- APPLICATIONS.

Deux types d'applications se dégagent :

1- Applications de recherche.

Qu'il s'agisse :

- d'études hormonales et enzymatiques chez les rats exsangues , ou sur des organes isolés,

- de l'étude de la chimiothérapie et de l'immunothérapie anti-cancéreuse,

- de l'étude des facteurs de sommeil etc..

les émulsions de FC permettent, d'une part , d'éliminer la contamination due aux protéines sanguines, ou à tous les facteurs autres que celui que l'on veut étudier , d'autre part, de faciliter les mesures spectroscopiques .

2- Les applications cliniques:

sont encore lointaines .

Les caractères des émulsions de FC , et en particulier, leur demi-vie plasmatique courte (48 à 96 heures), leur capacité de dissolution de l'oxygène intéressante seulement à fortes PO_2 , semblent les destiner plus tôt aux cas d'urgence:

- indications de transfusions d'urgence en cas d'accident.

- " Wash-out" ou lavage corporel total comme cela a été tenté dans des comas au cours d'hépatite grave; ce lavage avait été suivi d'une transfusion de sang frais équivalente au volume enlevé , mais cela ne devrait pas être forcément nécessaire avec les émulsions de FC, imposant dans le cas de remplacement total du sang , une ventilation en oxygène pur pendant les jours nécessaires à la reconstitution des globules rouges; or on connaît maintenant la toxicité pulmonaire possible de l'oxygène. Ces wash-out pourraient être proposés au cours des états de choc afin d'éliminer des substances toxiques (comme le MDF ou facteur de dépression myocar-

dique).

Si ces indications dans les cas d'urgence ou des cas désespérés peuvent être envisagées , par contre, les indications nécessitant des administrations répétées , avec le risque d'accumulation et donc de toxicité chronique, voire carcinogénétique (loin d'être apprécié à l'heure actuelle), comme celles proposées par GEYER (anémie aplastique , drépanocytose), dans le but d'éviter les inconvénients des transfusions fréquentes (immunisation, hémochromatose secondaire), nous paraissent pour l'instant loin d'être réalisables.

Outre toutes les indications éventuelles d'enrichissement en oxygène (infections à anaérobies -chimiothérapie des tumeurs):

- la perfusion pour la conservation de tissus et d'organes,
- l'oxygénation extracorporelle du sang , que ce soit pour les poumons artificiels ou simplement pour amorcer des reins artificiels ou les pompes de CEC,

nous paraissent plus rapidement applicables.

3- Nous citerons encore l'usage vétérinaire qui pourrait représenter une bonne utilisation des FC.

II- LA RESPIRATION LIQUIDIENNE. (par les FC purs)

Les travaux sur la respiration liquidienne de type branchial sont déjà anciens . Ils ont été inspirés par le désir de trouver une parade à l'embolie gazeuse survenant lors de décompressions rapides chez les plongeurs.

On avait pensé depuis longtemps que si l'homme pouvait respirer un liquide non compressible, il pourrait survivre à une décompression rapide imposée par exemple lors d'accidents sous marins. Ceci n'avait jamais été vérifié en raison de l'incapacité de l'eau à dissoudre plus de trois volumes d'oxygène à la pression atmosphérique.

Dès 1962, KYLSTRA surmontait cet inconvénient par l'emploi de l'hyperbarie ; des souris , puis des chiens (55) étaient ventilés avec des solutions salées isotoniques dans des chambres hyperbares.

CLARK et GOLLAN en 1966 furent les premiers à utiliser un liquide perfluoré (FX 80) en immergeant des souris dans ce liquide oxygéné . Si la survie des animaux était assurée , le problème majeur était celui de l'élimination du CO_2 : une hypercapnie apparaît en effet rapidement durant la ventilation liquidienne, aboutissant à une acidose respiratoire sévère.

A- Propriétés requises d'un liquide pour la respiration:

Les échanges gazeux entre un individu et l'extérieur surviennent par diffusion grâce à des gradients de concentration établis par la ventilation et la perfusion des poumons. Les facteurs limitant les échanges gazeux au cours de la respiration liquidienne sont représentés par :

- essentiellement la viscosité et la densité du liquide, la viscosité de l'eau est 40 fois celle de l'air : un plongeur qui peut avoir une ventilation minute d'air de 200 litres, ne pourra

ventiler que 5 litres d'eau salée dans le même temps. Or la viscosité des FC est égale à 2 fois celle de l'eau, et la viscosité dynamique est un peu inférieure. On peut donc prévoir que la ventilation alvéolaire sera insuffisante.

- La capacité de dissolution des gaz ; l'augmentation de la concentration en oxygène dans le liquide alvéolaire grâce à de fortes PO_2 peut pallier à cette insuffisance.

Ainsi, l'intérêt des FC réside en leur capacité de dissoudre les gaz, puisque leur contenu en oxygène est supérieur ou égal à 40 volumes pour cent en O_2 pur, et leur contenu en CO_2 supérieur ou égal à 140 volumes pour cent en CO_2 pur. On suppose bien entendu que l'oxygène est délivré aux tissus, ce qui pose le problème de la diffusion outre celui du coefficient de solubilité.

La viscosité et la densité d'un liquide ventilatoire devraient être aussi basses que possible, son coefficient de solubilité et sa capacité de diffusion en particulier celle du CO_2 , devront être très supérieurs à ceux de l'eau.

- La tension de surface:

La tension de surface des FC est très basse, ce qui fait de tous de bons agents mouillants, bien qu'inférieurs au surfactant pulmonaire.

B- Ventilation liquidienne et hématoxe.

--- Des chiens anesthésiés (MODELL -70), intubés, dont la sonde d'intubation est reliée à un récipient contenant un litre 200 de FX 80 oxygéné par trois litres d' O_2 /mn, élevé et abaissé au rythme de 3 à 4 fois par minute, sont ventilés pendant 30 minutes (donc avec un volume courant de 400 à 500 ml. et une ventilation/mn de 1,2 l. à 1,6 l.); si la PaO_2 est correcte entre 100 et 400 torr, la $PaCO_2$ augmente rapidement dès les premières minutes, jusqu'à 80 torr à la 30ème minute, avec baisse du pH à 7,10. Le FC est alors drainé hors du poumon, les chiens placés en O_2

pur pendant 45 minutes, puis sous tente à oxygène pendant trois jours, la FIO_2 étant ajustée de façon à ce que la PaO_2 se maintienne à 100 ± 30 torr. Tous les animaux survivent. Les gaz du sang se normalisent en 15 minutes sous O_2 pur, la PaO_2 se situant entre 400 et 500 torr, alors qu'en air elle est basse autour de 50 torr. Cet effet est transitoire puisqu'un mois après chez tous les animaux, les gaz du sang sont normaux en air et O_2 pur.

Les chiffres de la PaO_2 en air et en O_2 pur montrent qu'il ne s'agit pas d'un shunt absolu intrapulmonaire, mais relatif:

- . soit par trouble de la diffusion ,
- . soit par diminution du rapport $\frac{\dot{V} A}{P}$

--- MODELL est arrivé à faire survivre tous les chiens après huit heures de ventilation liquidienne, l'acidose étant corrigée par l'administration de Tham[®]. Les animaux sont somnolents, avec respiration lente et pénible pendant 48 heures, puis 5 jours après ils sont en bonne santé apparente.

Pour augmenter la ventilation/mn et l'élimination de CO_2 , le récipient de FC est placé plus haut, au prix d'une augmentation des pressions intrachéales supérieures à 60 torr, jouant peut être un rôle dans la distension alvéolaire avec rupture des cloisons interalvéolaires notée histologiquement.

Après l'arrêt de la ventilation liquidienne, les animaux étant placés en O_2 pur, on constate de même une chute de la PaO_2 à 45 torr, cette hypoxie nécessitant 7 jours pour se normaliser.

--- SAGA (96) a étudié d'une façon analogue l'évolution des gaz du sang chez des chiens ventilés par la Caroxine-F (dont la vp est plus basse que celle du FX 80: 45 contre 75), les chiens ont également tous survécu. L'étude des gaz du sang montre une acidose respiratoire moins importante ne nécessitant pas de tampon, une PaO_2 à 300 torr. Si l'acidose respiratoire se corrige dès le retour des animaux à la ventilation

gazeuse, on observe dans les premières 24 heures une hypoxie modérée à 60 torr, se corrigeant en O_2 pur. Cette hypoxie se corrige rapidement dès le lendemain.

-- CALDERWOOD (15) obtient des résultats intermédiaires entre ceux du FX-80 et ceux de la Caroxine-F avec la Caroxine-D.

--SASS (100) est le seul à obtenir le maintien d'une $PaCO_2$ normale chez des chiens ventilés avec un FC , en faisant recirculer rapidement le FC en 100% d' O_2 pour éliminer le CO_2 .

-- Conclusions:

Avec la ventilation liquidienne par différents FC oxygénés, on obtient une oxygénation satisfaisante , la PaO_2 se situant entre 100 et 300 torr; par contre, il se développe rapidement une acidose respiratoire rapportée - à l'hypoventilation alvéolaire - à la diffusion plus lente du CO_2 dans le FC que dans l'air.

A l'arrêt de la ventilation liquidienne, se développe une hypoxie d'intensité et de durée variable selon les FC, sans shunt absolu : elle est donc rapportée soit à un trouble de la diffusion, soit à une chute du rapport $\frac{\dot{V}_A}{P}$.

P

L'acidose respiratoire est améliorée :

- par l'utilisation d'un respirateur mécanique (MOSKOWITZ-GOLLAN) comportant deux pompes, permettant le maintien d'une $PaCO_2$ normale.

- Par l'adjonction de Tham[®] au FC (SCHOENFISH- KYLSTRA), ce qui augmente le coefficient de solubilité du CO_2 ; en effet, le contenu en CO_2 d'une solution 0,3 molaire de Tham équilibrée avec le CO_2 à une pression partielle de 40 mmHg, est d'environ 390 ml (STPD) par litre, celui de l'eau salée 29 ml, et celui du FC-80 : 84 ml ; Cela aboutit à remplacer le FC pur par une émulsion de FC à 30% , celle-ci risque d'assurer

un apport d'oxygène insuffisant à la pression d'une atmosphère.

C- Ventilation liquidienne et fonction pulmonaire.

24 heures après l'arrêt de la ventilation liquidienne, on note une élévation des résistances pulmonaires et une diminution de la compliance retournant à la normale en 72 heures (96 -118).

Cette chute de la compliance est retrouvée par GOLLAN (38) chez un chiot partiellement ou complètement immergé. La compliance retourne à la normale dès la sortie du liquide pour chuter à nouveau dans les 24 heures.

Ces modifications de la fonction pulmonaire sont contemporaines de l'hypoxie observée.

Deux causes essentielles peuvent être envisagées à l'origine de ces modifications gazométrique et mécanique :

1°- Les lésions histologiques inflammatoires aiguës de la phase précoce, retrouvées par tous les auteurs, dont l'apparition et la disparition sont contemporaines de l'hypoxie et de l'augmentation des résistances.

2°- La présence de FC résiduel dans les alvéoles; on n'arrive jamais en effet à drainer tout le FC hors des poumons et il existe une perte de 200 à 400 ml; or la vitesse de diffusion de l'O₂ dans le FC est très inférieure à celle de l'air, ce retentissement de la vitesse de diffusion étant minimisé quand le liquide est saturé en O₂, ce qui expliquerait la normalisation de la PaO₂ en O₂ pur; de plus si la capacité de dissolution de l'O₂ dans le FC est de 40 volumes % en O₂ pur, elle n'est plus^{que} de 11,7 volumes % en air.

Cependant, on s'expliquerait mal la normalisation et de la PaO₂ et de la fonction pulmonaire, alors qu'il persiste des quantités importantes de FC dans le poumon un mois après.

Enfin, pour les FC à vp basse, la formation de bulles de gaz dans les alvéoles peut contribuer à l'hypoxie par la diminution de la PAO_2 disponible pour le transfert. Cela pourrait expliquer l'hypoxie beaucoup plus sévère rencontrée avec le FX 80 qu'avec les Caroxines D et F aux vp plus basses.

La nature du FC intervient probablement :

les Caroxines D et F sont des composés purs, alors que le FX 80 est un mélange d'isomères avec nombreuses impuretés éventuellement toxiques.

L'importance des lésions pulmonaires est appréciée différemment par les auteurs : si MODELL trouve des lésions plus importantes avec le FC 43 qu'avec le FX 80, CALDERWOOD trouve des lésions plus importantes avec le FX 80 qu'avec les Caroxines D et F.

D- Ventilation liquidienne et toxicité pulmonaire.

Voir chapitre sur la toxicité.

En ce qui concerne la rétention pulmonaire, elle est analogue à la rétention hépatique des FC injectés par voie IV:

des macrophages vacuolés contenant le FC persistent très longtemps dans le poumon (2 ans pour la Caroxine-D), sans réaction tissulaire apparente, sans modification des fonctions pulmonaires.

Les lésions inflammatoires aiguës régressent complètement, sans évolution vers la fibrose.

Cette rétention est évidemment variable avec la vp du FC : la rétention du FX-80 est beaucoup moins marquée que celle de la Caroxine-D.

Lors de la ventilation liquidienne, les FC n'altèrent pas le surfactant, résultat confirmé in vitro: Le surfactant est

insoluble dans le FC, à l'arrêt de la ventilation le surfactant est intact, de même que ses propriétés de tension de surface.

E- Ventilation liquidienne et décompression.

Des souris respirant du FC pur oxygéné pendant 10 minutes à la pression atmosphérique survivent à une décompression rapide en 5 secondes d'une hauteur de 10.000 pieds au-dessus du niveau de la mer, alors que des souris de contrôle soumises au même cycle de compression-décompression meurent (37).

KYLSTRA en 1967 rapporte qu'une souris respirant un FC a survécu à une compression à 100 atmosphères en 30 minutes; elle a été décomprimée en 3 secondes , et était vivante un mois après l'expérience.

F- Applications.

--- La respiration liquidienne semble capable de protéger un plongeur des accidents de décompression, de l'embolie gazeuse, de la maladie des caissons, de l'ivresse des profondeurs , éventuellement des explosions sous-marines .

Elle demande cependant encore beaucoup d'améliorations: il apparait pour l'instant que si l'amélioration de l'acidose respiratoire est possible en fonction de la nature du FC et du mode de ventilation, elle ne pourrait être complètement évitée qu'au prix d'une diminution des capacités de transport d'oxygène . Celles-ci resteront-elles suffisantes ?

--- Une application très proche est représentée par la prévention des accidents liés à la " blast-injury".

--- L'application de cette respiration liquidienne à la pathologie humaine a été proposée dans des états de détresse respira-

toire par KYLSTRA (53-55) et CALDERWOOD (14) .

CALDERWOOD propose le lavage pulmonaire à la Caroxine-D comme traitement d'un OAP expérimental obtenu par instillation d'une solution de sucre concentrée: s'il n'existe pas de lésions pulmonaires différentes dans le groupe témoin et le groupe Caroxine , donc à priori pas de toxicité pulmonaire de la Caroxine-D , l'avantage paraît assez mince; si le volume du liquide d'oedème recueilli est plus important pendant la première heure dans le groupe FC, le volume total en 3 heures est identique dans les deux groupes.

Par ailleurs, l'élévation de la PaO_2 supérieure à 150 torr à la 3ème heure , persistant plus longtemps que dans le groupe témoin , n'est obtenue qu'au prix d'une acidose respiratoire pendant le lavage.

Le FC résiduel, outre qu'il dissout mieux l'oxygène que le liquide d'oedème, aurait l'avantage cependant de prévenir le collapsus alvéolaire par une action de surfactant.

KYLSTRA propose la ventilation liquidienne comme moyen de lavage pulmonaire dans l'asthme, les bronchectasies , la mucoviscidose grâce à une solution salée , toujours au prix d'une acidose respiratoire.

RUFER (95) propose la ventilation au FC comme traitement des atélectasies pulmonaires du nouveau-né , en raison de la faible tension de surface du produit.

Il n'est guère possible pour l'instant , avant que de nombreux progrès aient été faits , d'envisager des applications en pathologie humaine. Elles seraient d'ailleurs limitées, excluant les affections dues à un bloc membranaire , offrant l'inconvénient de surajouter les lésions pulmonaires inflammatoires du FC à la maladie sous jacente.

Enfin, la ventilation en FC impose pour l'instant l'emploi de fortes PO_2 , dont on connaît le retentissement fâcheux sur le poumon.

III- OXYGENATION EXTRA-CORPORELLE

OXYGENATEUR LIQUIDE-LIQUIDE.

(ou oxygénateur à membrane liquide).

- Vers 1965, STEPHEN HOWLETT (46) eut le premier l'idée d'utiliser des liquides transporteurs d'oxygène à la place d'oxygène gazeux dans les oxygénateurs extracorporels.

A cette époque , les premiers oxygénateurs , à bulles, posaient de nombreux problèmes:

- dénaturation des protéines, liée à l'oxydation des groupements sulfhydriques par l'oxygène atmosphérique , protéines coagulant à l'interface gaz-liquide.

- Destruction cellulaire avec hémolyse importante.

Une amélioration était apportée par l'oxygénateur à disques qui pouvait être utilisé plus longtemps , mais l'agitation mécanique du sang était cause de traumatisme globulaire .

Enfin, le dernier-né, l'oxygénateur à membrane possédait l'avantage d'éviter le contact direct gaz-sang réputé responsable des troubles constatés, mais les premières membranes étaient peu performantes , opposant un certain obstacle à la diffusion des gaz et leur faible surface ne permettant pas une oxygénation suffisante.

HOWLETT eut l'idée de remplacer la membrane par un liquide transporteur d'oxygène, soit une huile siliconée DC-200 , soit le FX-80.

L'appareil utilisé comportait une chambre verticale remplie de FC oxygéné, dans laquelle pénétrait le sang poussé par une pompe; le sang coulait en couche mince le long des parois d'une série de plaques disposées verticalement, le FC beaucoup plus dense que le sang coulait en sens inverse, l'échange gazeux se faisant à l'interface des deux liquides . En cours d'expérience chez le chien, des échantillons de sang étaient prélevés à intervalles réguliers pour mesurer le pH , la saturation en oxygène et le taux d'hémoglobine ; la pression artérielle et l'ECG étaient enregistrés. La durée du by-pass variait de 30 minutes à 4 heures; 5 des 6 chiens étudiés étaient survivants et sont restés

en bonne santé jusqu'à leur sacrifice.

ECG et pression sanguine restaient constants, le taux d'hémolyse était extrêmement bas, l'oxygénation du sang était correcte: au débit maximal du sang, le SvO_2 passait de 56 à 90%.

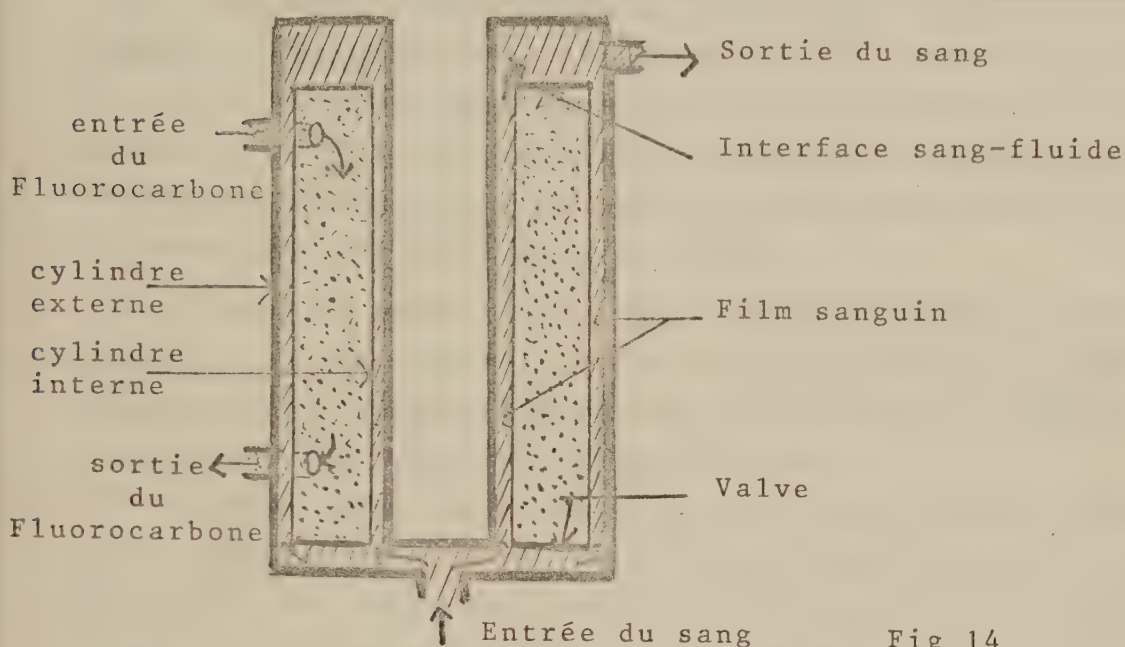


Fig 14

Oxygénateur selon Howlett (1965)

Des études ultérieures (28-29) montrèrent que si l'appareil fonctionnait correctement pour des débits modérés, aux débits importants nécessaires pour un by-pass complet, se formait une mousse à l'interface FX-80-sang, correspondant à une émulsion stable FX-80-sang (cette mousse ne se formait pas quand l'appareil fonctionnait avec FC et eau, mais seulement avec FC + solution contenant des protéines).

Des gouttelettes de FX-80 restaient enfermées dans l'oxygénateur, elles étaient donc susceptibles d'être emmenées par le courant sanguin, ce qui imposait l'addition d'un piège à FC.

- LANDE et Col. (56) a également préconisé l'emploi d'un oxygénateur à FC, pour les plongeurs aux grandes profondeurs.

- WALLACE (120-121-122), pour éviter la formation de cette mousse entraînant l'arrêt des expérimentations, a imaginé un

oxygénateur utilisant des bulles d'oxygène encapsulées par un FC.

La taille de la bulle d'oxygène et l'épaisseur de la couche de FC (FC-47) peuvent être contrôlées; la membrane ^{liquide} la plus fine utilisée mesurait un micron.

Le sang n'entre donc en contact qu'avec le FC, ce qui élimine les altérations liées au contact gaz-sang. L'avantage de cette membrane de FC par rapport à une membrane classique, consiste en son haut coefficient de solubilité d'O₂ et de CO₂, le peu de résistance à la diffusion des gaz avec de meilleures vitesses de transfert d'O₂ et de CO₂.

Même en comparaison des membranes actuelles les plus performantes, son avantage consiste en l'absence de dépôts fibrinoplaquettaires souvent constatés à la longue sur les membranes classiques, nuisant aux échanges gazeux.

Bien qu'en principe l'appareil soit conçu de façon à ce que les FC n'entrent pas dans l'organisme, WALLACE a étudié la tolérance du sang vis à vis du FC. Il confirme de nombreux travaux, en ne trouvant aucune modification ni des globules rouges, ni du fibrinogène, ni des plaquettes ^{ni des protéines} après contact in vitro du sang et du FC-47 pendant 24 heures; en raison des propriétés lipophiles du FC, il a cherché à savoir si les FC modifiaient les lipides sanguins et il n'a observé aucune modification.

Cette étude in vitro a été confirmée par des études in vivo chez des chiens dont le sang traverse un générateur d'interface sang-FC.

L'appareillage de l'oxygénateur consiste principalement en une colonne contenant les FC: des bulles d'oxygène entrent dans la colonne et sont revêtues d'une couche de FC durant leur ascension; les bulles encapsulées passent dans la phase sanguine, délivrant l'oxygène et captant le CO₂, puis elles sont collectées au sommet de l'appareillage où elles sont détruites. Le FC est ensuite recyclé. Deux chiens ont ainsi été placés sous CEC totale pendant une heure à un débit de 80 ml/mn; la PaO₂ était maintenue entre 400 et 500 torr, tandis que PaCO₂

et pH restaient normaux. Aucune modification sanguine n'était constatée , l'expérience a été renouvelée à plusieurs reprises, aucune modification tissulaire macroscopique et histologique n'a été constatée chez des chiens sacrifiés 30 jours après.

Ce type d'oxygénateur à membrane liquide pourrait être proposé, à faible débit pour la perfusion d'organes, en vue de transplantation

• à débit important, soit pour la chirurgie cardiaque, soit dans l'indication actuelle des oxygénateurs à membrane, chez les malades présentant une hypoxémie réfractaire susceptible d'être réversible en quelques jours, l'oxygénateur extracorporel suppléant l'échangeur pulmonaire jusqu'à son retour à l'état normal.

Les succès obtenus avec les derniers oxygénateurs à membrane expliquent probablement le désintérêt relatif pour ce type d'oxygénateur à membrane liquide. Celui-ci semble pouvoir cependant simplifier la mise en oeuvre de ces oxygénations extracorporelles , en évitant le problème des dépôts fibrino-plaquettaires.

Son application aux activités sous-marines , pour éviter en particulier la maladie des caissons , paraît pour l'instant relever plus de la science-fiction que de la science tout court.

EXPERIMENTATION PERSONNELLE

Il ressort de l'étude de la littérature que le principal intérêt des FC réside dans leur utilisation comme substitut du sang.

Afin de prouver cette capacité éventuelle des FC, il faut que le remplacement du sang soit le plus complet possible.

Aussi, en nous basant sur les travaux de GEYER , nous sommes-nous proposés comme but la réalisation d'exsanguino-transfusions chez le rat, grâce aux émulsions de FC mises à notre disposition par la Société Ugine-Kuhlmann .

Nous avons utilisé tout d'abord des autoémulsions , réalisées grâce à un couple de surfactants. Comme elles se sont révélées rapidement très toxiques, nous avons fait appel à une émulsion plus classique d'un fluorocarboné , le $C_8F_{17}C_2H_5$, émulsionné par les ultra-sons en présence de Pluronic F 68.

I- MATERIEL ET METHODE.

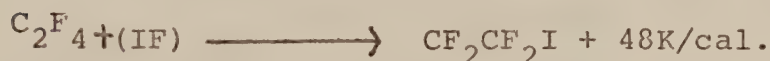
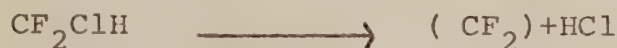
A- Les FC testés.

Leur méthode de synthèse est chimique, offrant ainsi l'avantage sur la méthode électrochimique (à l'origine de la plupart des autres FC utilisés) d'un très grand niveau de pureté (99%) et d'une bonne reproductibilité.

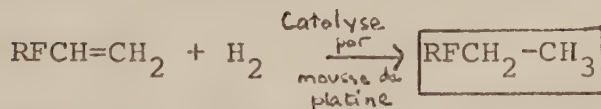
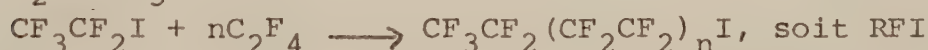
1- Les FC type $C_8F_{17}CH=CH_2$ et $C_8F_{17}C_2H_5$

sont synthétisés à partir de molécules fluorées simples sur lesquelles on greffe des motifs F-alkylés à partir des dérivés F-alkylés de l'iode et de certains métaux lourds (59-89-97).

A partir du forane 22 , $CF_2 ClH$



IF = iodure de perfluoroéthyle.



$RFCH=CH_2$ représente la formule générale du FC $C_8F_{17}CH=CH_2$

(soit FC 1), que nous avons utilisé dans l'émulsion 820.

$RFCH_2CH_3$ représente la formule générale du FC $C_8F_{17}C_2H_5$

(soit FC 3) que nous avons utilisé dans les exsanguinotransfusions, il présente l'avantage par rapport au précédent de ne pas posséder de double liaison, celle-ci ayant été soupçonnée de faciliter la rétention dans l'organisme et d'être un facteur de toxicité.

FC 1 et FC 3 ont des caractéristiques physico-chimiques

	$C_8F_{17}CH=CH_2$ (1) $C_8F_{17}C_2H_5$ (2)	$C_6F_{13}CH=CH C_6F_{13}$	$C_6F_{13}C_3H_6O (C_2H_4O)_2H$
Poids moléculaire	446	664	466
Point ébullition °C/mm Hg	151°/760	195°/760	115°/1
	105 / 200	100 / 20	
Tension de vapeur à 37° C	12 mm Hg	0,4 mm Hg	
	7 " " (2)		
Densité à 20°C g/cm3	1,6786	1,7793	1,4888
d g/cm3/0°C	1,29-10 ⁻³	1,16-10 ⁻³	1,06-10 ⁻³
Tension superficielle à 20°C en dynes/cm	17+0,2	17+0,2	21,1+0,2
Indice de réfraction à 20°C	$n_D^{20} = 1,297+0,002$	1,298+0,002	1,359+0,002
Viscosité à 20°C en centipoises	2,11	7,73	
Solubilité des gaz à 25°C en CM3/ 100 CM3 :	33 44 200	29 42,5 205	
	N_2 O_2 CO_2		

Tableau 7

peu différentes, la vp de FC 3 est de 7 mmHg au lieu de 8 pour FC 1.

2- Les FC possédant plusieurs chaines, sont fabriqués toujours par Uguine Kuhlmann à partir d'un procédé mis au point par RIESS : plusieurs chaines F-alkylées sont greffées sur un centre insaturé de type éthylénique, diéni- que ou acétylénique. Ainsi, les bisperfluoroalkyléthylènes: $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_n-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CF}_2)_n-\text{CF}_3$

C'est à cette série qu'appartient un des composés perfluorés testés :

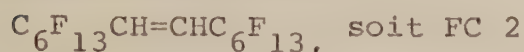


Schéma de leur méthode de synthèse:



Les caractéristiques physico-chimiques sont portées sur le tableau 7.

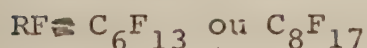
B- Les émulsions.

1- Les autoémulsions.

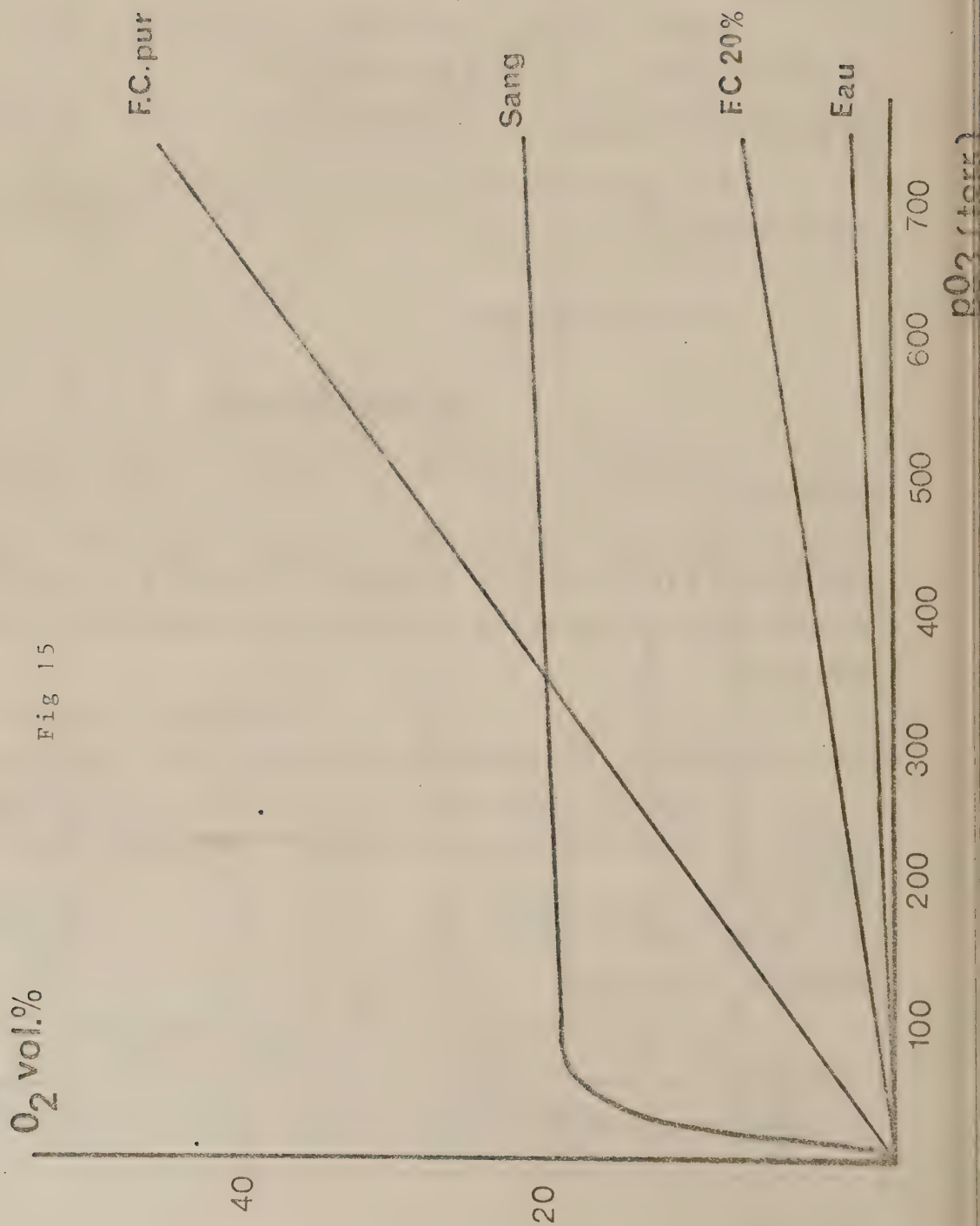
Elles permettent de se passer d'homogénéisateur ou de générateur d'ultra-sons, les émulsionnements obtenus par ce type d'appareil nécessitant de telles quantités d'énergie que certaines liaisons sont rompues: liaisons C-F avec libération d'une certaine quantité d'ions fluor pouvant aller jusqu'à 200 ppm

d'autres liaisons sont rompues, avec libération de composés éventuellement toxiques.

L'autoémulsion est obtenue grâce à l'utilisation d'un couple de surfactants perfluorés non-ioniques de formule générale



Il s'agit d'alcools perfluorés éthoxylés. En effet, l'utilisation d'un seul surfactant perfluoré, s'il permet d'obtenir de très bonnes émulsions en raison de la solubilité de sa partie



hydrophobe dans le composé fluoré à émulsionner (ce qui n'est pas le cas rappelons-le, du Pluronic), nécessite un mode d'émulsification classique.

Par contre, l'utilisation de deux surfactants fluorés ayant des balances hydrophiles -lipophiles différentes , dont l'une à tendance hydrophile (HLB élevée) et l'autre à tendance lipophile (HLB faible) permet , pour une certaine composition du mélange des surfactants , de préparer l'émulsion en ayant recours à une agitation très modérée (agitation manuelle ou magnétique).

En faisant varier la concentration respective des deux surfactants , on modifie la taille des particules .

Les deux surfactants utilisés dans nos émulsions ont la formule suivante :

$S_1 = C_6F_{13}(C_2H_4O)_{12}H$ produit à caractère hydrophile

$S_2 = C_6F_{13}C_3H_6O(C_2H_4O)_2H$ produit à caractère lipophile.

Pour des émulsions contenant environ 20% des phase dispersée, il faut utiliser environ 5 à 10% en poids d'émulsifiant par rapport à la phase aqueuse.

Cette quantité importante de produit fluoré procure un deuxième avantage aux émulsions:

celle d'augmenter la solubilité de l' O_2 dans l'émulsion , qui nous l'avons vu (figure 45) est inférieure à celle du sang malgré une PO_2 à 600 mmHg , pour les émulsions à 20% habituellement employées (représentant l'équilibre entre une trop grande viscosité et un trop faible contenu en O_2).

En effet, la solubilité de l' O_2 dans ces tensioactifs fluorés est de l'ordre de 20 à 35 volumes %.

Les dimensions des micelles ont été déterminées par étude au microscope électronique après réplique au carbone. Elles sont presque toutes inférieures à 0,1 micron. Les auto-émulsions restent stables pendant plusieurs semaines sans grossissement des micelles.

A la température de 20° C , l'émulsion devient laiteuse puis sédimente; cette transformation est réversible et



se reforme par simple agitation manuelle.

Composition des émulsions utilisées

	Emulsion 820	Emulsion 626	Emulsion 820 modifiée
FC 1	247 g ⁰ / ₁₀₀		241 g ⁰ / ₁₀₀
FC 2		291,3 g ⁰ / ₁₀₀	
S 1	36,2 --	36,7 --	26 --
S 2	19,6 --	19,3 --	12 --
Rhodoviol			7 --

La phase aqueuse est constituée par du sérum physiologique dont la composition est la suivante :

NaCl :	8g/l	= 136 mEq/l
KCl :	0,2 g/l	= 2,4 mEq/l
CaCl ₂ :	0,265-	= 100 -
MgCl ₂ :	0,1 -	
Na ₂ HPO ₄ :	0,05 --	
CO ₃ HNa:	1 g/l	= 12 mEq/l
Glucose:	1 g/l	

L'osmolarité mesurée est de 310 mOsm/litre .

Les émulsions sont stérilisées par chauffage à 110 - 115° C pendant 15 minutes, puis filtrées sur millipore de 0,22 micron sous une différence de pression de 0,5 bar. Le chauffage provoque la séparation des phases, mais l'émulsion se reforme par simple retournement du récipient refroidi à la température de stabilité de l'émulsion (37° C $\pm$ 5). Il n'y a pas eu de détermination de la viscosité , ni de vérification d'une pression collcoïde analogue à la pression oncotique.



En ce qui concerne le contenu en fluor, les premières émulsions en contenaient 100 micromoles par litre; les suivantes passées sur résine échangeuse d'ions ont été contrôlées: elles en contiennent moins de 1 micromole par litre. Les premières émulsions contenant du fluor ont été utilisées par voie intra-péritonéale (IP).

2- Les émulsions classiques.

Il s'agit d'émulsions contenant 1 FC, du PF-68, et émulsionnées par passage aux ultra-sons.

a- Emulsion testée = émulsion 1.

Elle comporte comme FC le FC 3, à la concentration de 33 g/l. (soit 20 volumes %) , du PF-68 (2 g/l) , la phase aqueuse étant constituée par le sérum physiologique précédemment décrit.

Une variante, en plus des éléments ci-dessus, comporte du dextran 0,5 g/l.

--- la viscosité de l'émulsion est 2,9 cs , sa viscosité relative est de 3 cs. Sa densité est de 1,15 .

--- La taille des particules est supérieure à celle des autres émulsions, il existe un contingent notable de micelles de 0,4 à 0,6 microns : l'émulsion est filtrée sur millipore de 0,65 .

--- Avant passage sur résine le contenu en ions fluor libres est de 200 à 400 micromoles par litre, il est inférieur à 1 micromole après passage sur résine.

--- Le pouvoir de dissolution de l'O₂ dans cette émulsion est en théorie de 8,8 volumes % pour une PO₂ de 760 torr .

--- Elle est traitée à 95° C pour stérilisation.

b- Emulsions de contrôle:

--- Emulsion 2 contenant 1 FC réputé non toxique et rapidement éliminé, la perfluorométhyl-décane (PF9) à la concentration de 20% , émulsionnée grâce au couple de surfactants S 1 et S 2 présents dans les autoémulsions, afin de tester la toxicité des surfactants.

--- Emulsion 3 contenant le même FC PP9 émulsionné grâce aux ultra-sons , en présence de PF-68 , et d'un seul des deux surfactants S 2, destinée à tester la toxicité éventuelle de S 2.

--- Emulsion 4 : consistant en une solution salée fluorée destinée à vérifier la toxicité des ions fluor . Elle contient 0,1 mEq/l d'ions fluor, quantité bien supérieure à celle que peuvent contenir nos émulsions;

Composition de ces émulsions

	Emulsion 2	Emulsion 3	Emulsion 4
PP9	20 ml	18 ml	
S 1	4 g		
S 2	1,6 g	2 ml	
PF-68		2 g	
NaF			100 micromoles/l
Sérum phys.	80 ml	80 ml	qs

L'émulsions N° 2 est filtrée sur millipore 0,3 microns,

L'émulsion N° 3 " " 0,65 "

C- Les animaux d'expérience.

--- Il s'agit de rats Wistar mâles, de poids compris entre 250 et 500 g.

--- Ils sont anesthésiés par un mélange de Nembutal 5% : 0,1 ml quel que soit le poids, et Kétamine : 50 mg/kg.

D- Protocoles.

1°- Etude de la toxicité:

a- Toxicité du FC pur.

3 rats ont reçu 1 ml de FC 1 par voie I.V., soit dans une veine de la queue, soit dans une veine jugulaire, après dénudation et cathétérisme .

b- Toxicité des émulsions.

--- 20 rats ont reçu de 1 à 10 ml des autoémulsions 820 , 626, 820 modifiée :

• par voie IP : 4 rats :

1 rat : 5 cc émulsion 820

1 rat: 10 cc émulsion 820

1 rat: 5 cc émulsion 626

1 rat: 10cc émulsion 626.

• Par voie IV, l'injection se faisant en une à deux minutes, soit par la veine de la queue, soit par la veine jugulaire:

7 rats: 1 à 3 cc émulsion 820

7 rats: 1 à 3 cc émulsion 626

2 rats: 1 à 3 cc émulsion 820 modifiée.

--- 5 rats ont reçu par voie IV fémorale (dénudation-cathétérisme) 40 ml par Kg de l'émulsion 1 ($C_8F_{17}C_2H_5$ / PF-68) après soustraction d'un volume de sang égal à la moitié de la quantité injectée .

--- Emulsions de contrôle :

• 5 rats ont reçu par voie IV 7 ml de la solution d'ions fluor, soit au total 7×10^{-4} mEq d'ions fluor, ou 2×10^{-3} mEq/Kg.

• 6 rats ont reçu 2 ml IV de l'émulsion 2 (PP9 + S 1 + S 2) .

• 2 rats ont reçu 2 ml IV de l'émulsion 3 (PP9 + S 2 + PF-68) .

2°- Les exsanguinotransfusions (EST).

a- Voie d'abord : après diverses tentatives (par voie jugulaire ou par la veine de la queue) , on s'est résolu à cathétériser l'artère et la veine fémorales des rats: dénudation des vaisseaux fémoraux, introduction d'un cathéter opaque aux rayons X Venocath N°48 jusque dans l'aorte et la VCI, position vérifiée par radio, cathéters fixés solidement à la peau par sparadrap .

b- Produit utilisé : émulsion FC 1 + PF-68 .

c- Protocole : 9 rats exsanguinés avec émulsion 1
dans 5 cas : l'EST avec l'émulsion 1 est menée paral-

lèlement à une EST par un colloïde consistant en une gélatine modifiée (Plasmion).

Donc, au total 14 rats : 9 FC

5 Plasmion.

Les rats étant anesthésiés de la même façon (Nembutal + Kétamine) , les cathéters sont mis en place et rincés avec du sérum hépariné contenant 100 UI par ml. Ils sont ensuite placés dans une enceinte en plastique souple transparent d'un volume de 2 litres environ ; à une extrémité de l'enceinte l'oxygène arrive par un tuyau souple, l'autre extrémité est refermée autour de la queue du rat , les cathéters sortant par un orifice prévu à cet effet.

L'enceinte n'est pas rigoureusement étanche , le débit d'oxygène est réglé de façon à la maintenir gonflée , sans toutefois créer d'hyperpression . Dans ces conditions, on est assuré que la FIO_2 est proche de 1.

Une fois l'animal réveillé , l'injection est effectuée dans la ligne veineuse , la soustraction de sang par la ligne artérielle; l'EST est assurée soit par une pompe à galets, type Oxford , soit manuellement à l'aide de 2 seringues de 50 ml à la vitesse approximative de 2 ml par minute; l'opération qui dure de 30 à 45 minutes est interrompue lorsque la couleur de la ligne veineuse est presque identique à celle de la ligne artérielle, ce qui correspond à un hémocrite inférieur à 1.

Le volume des échanges varie entre 50 et 80 ml selon la taille du rat, ce qui correspond à environ trois fois le volume sanguin.

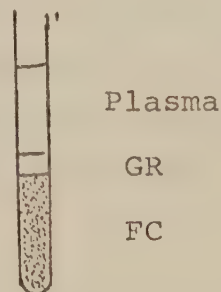
La surveillance de l'animal est assurée par la prise de la pression artérielle grâce à une tête de pression Riegel modèle : DM 722B et une chaîne de prise de pression que l'on peut connecter aux temps choisis à la ligne artérielle.

d- Les prélèvements: sont réalisés :

- avant toute injection en atmosphère d'oxygène pur ,
- (valeurs témoins) les prélèvements ultérieurs sont réalisés à la fin de l'EST , puis à des périodes variables selon la survie de l'animal.

Ils comportent dans tous les cas :

- la gazométrie complète du sang artériel et veineux (toutefois dans un certain nombre de cas, on n'a pas réussi à obtenir le retour du sang veineux) : PO_2 PCO_2 pH par radiometer , mesure des concentrations en oxygène par Lex O_2 Co
- Hématocrite et fluorocrite ; nous définissons par fluorocrite le volume occupé par le FC après centrifugation du sang collecté dans un tube capillaire.



- Dans quelques cas , nous avons mesuré les transaminases , mais cela n'a pu être réalisé que de façon très parcellaire , étant donné le fragile équilibre tensionnel des rats et l'absence de microméthode .

Dans 5 cas, nous n'avons que des résultats parcellaires, soit par non mesure des paramètres , soit par mort rapide de l'animal.

- Tous les animaux ont été autopsiés immédiatement après leur mort . Divers organes tels le coeur, les poumons, le foie, la rate et les reins ont été prélevés dans 6 cas pour examen histologique.
- Dans 5 cas, les urines ont été recueillies par ponction vésicale post-mortem , pour dosage des FC par chromatographie gazeuse.

II- RESULTATS EXPERIMENTAUX.

A- Etude de la toxicité.

1- L'injection IV chez trois rats de FC 1 pur entraine la mort des animaux en trois minutes, à la dose de 1 ml, soit environ 4 ml/kg . Les rats ont des mouvements convulsifs et meurent d'arrêt respiratoire précédant l'arrêt cardiaque.

2- Les émulsions :

a- en administration IP , 10 cc d'émulsion 626 entraînent le décès à la 18ème heure; pour l'émulsion 820 , 10 cc entraînent la mort en 3 heures dans un tableau d'adynamie progressive , 5 cc entraînent la mort à la 23ème heure.

1 rat ayant reçu 5 cc IP d'émulsion 626 a survécu et est actuellement en bonne santé..

b- En administration IV:

— l'émulsion 626 à la dose de 3 à 12 ml/kg entraine la mort de 6 rats sur 7 en moins de 2 minutes , avec bradypnée, irrégularités respiratoires, tachycardie, cyanose et arrêt respiratoire précédant l'arrêt cardiaque. Un seul animal a survécu à la dose de 3 ml /Kg injectés très lentement en 30 minutes environ.

— L'émulsion 820 à la dose de 4 à 12 ml/Kg entraine la mort de 7 rats sur 7 dans un tableau identique.

— De même l'émulsion 820 modifiée entraine la mort de 2 rats sur 2, dans le même tableau.

— L'émulsion FC 1 + PF-68 à la dose de 40ml/kg n'est pas létale; 5 rats sur 5 sont vivants et bien portants au bout de 3 semaines, après une première période de malaise de 24 heures (animal apathique , ne mangeant, ni ne buvant , ne faisant pas sa toilette).

— Contrôles :

• 6 rats ayant reçu 2 ml de l'émulsion 2 (PP9 + Surfactants S1+S2) sont morts en 4 minutes par arrêt respiratoire.

• Par contre, l'injection de 2,5 ml de l'émulsion 3

(PP9 + S 2 + PF-68) chez 2 rats est suivie après une période de 12 à 18 heures où l'animal est apathique d'une récupération totale dès le lendemain.

• Les 5 rats ayant reçu la solution d'ions fluor n'ont présenté aucun signe de toxicité apparente ; ils sont vivants et en bonne santé à la 3ème semaine.

B- Résultats des EST.

1°- Mortalité:

Tous les animaux sont décédés.

2- Délai de survie à partir de la fin de l'EST.

a- EST par FC; chez 9 rats , dont l'hématocrite est inférieur à 1% , la moyenne de survie est de 4 heures 43 mn, avec des extrêmes allant de 45 mn à 11 heures.

b- EST par Plasmion ^(R) : les 5 EST pratiquées avec le Plasmion ont pu être poursuivies jusqu'à leur terme (hématocrite inférieur à 1%), mais la survie n'est alors que de quelques minutes, sauf 1 cas où elle a été de 45 mn.

La comparaison de la durée de survie des rats exsanguinés en parallèle , soit par le FC , soit par le Plasmion, confirme la survie beaucoup plus longue des rats FC.

Etude de la durée de survie des rats à partir dès la fin de l'EST.

N° des rats	FC	N° des rats	Plasmion
1	3 heures	6	1 mn 30
2	45 mn	7	2 mn
3	5 heures	8	qqques sec.
4	3 heures	9	"
5	6 heures	10	"

3- Etat clinique.

a- Aspect général de l'animal:

-- Le début de la perfusion de FC est marqué par un état de torpeur de l'animal qui souvent se couche sur le côté et réagit peu aux diverses stimulations. Dans 5 cas, cet état se prolonge jusqu'à l'apparition du coma terminal. Par contre, dans 4 cas, à cette torpeur, succède une amélioration, l'animal paraissant récupérer une certaine vivacité pendant un temps variable, avec aggravation secondaire évoluant rapidement vers un coma avec mydriase et tachypnée, précédant de peu la mort.

-- Pour les rats -plasmion, au contraire, le début de l'EST est très bien toléré, puis survient également une tachypnée avec agitation importante précédant de peu le coma et la mort.

b- Pression artérielle:

-- L'évolution clinique des rats FC est parallèle à celle de la PA. Dans les meilleurs cas, la PA en fin d'EST est identique ou à peine inférieure à la PA témoin, (c'est à dire celle des animaux avant toute injection) et se maintient pendant une période de durée variable, puis survient un collapsus, d'abord partiellement réversible par l'injection de produits de remplissage, puis irréversible aboutissant à la mort.

Durant la phase de stabilité tensionnelle, l'équilibre est fragile, puisque des chutes de PA brutales et importantes peuvent être déclenchées par les prélèvements de minimes quantités de sang nécessaires pour les examens : 1 ml, soit 5 à 6% du volume circulant.

Comme produits de remplissage, nous avons utilisé l'émulsion de FC elle-même, les propres protéines du rat obtenues par centrifugation, de l'albumine humaine, et le culot globulaire du rat, ces deux derniers produits se sont révélés les plus efficaces, mais n'ont pas empêché l'évolution fatale.

-- Quant aux rats-plasmion, la mort survenant très rapidement dès la fin de l'EST, nous n'avons pas eu le loisir de faire de telles mesures.

4- L'étude de l'hématose.

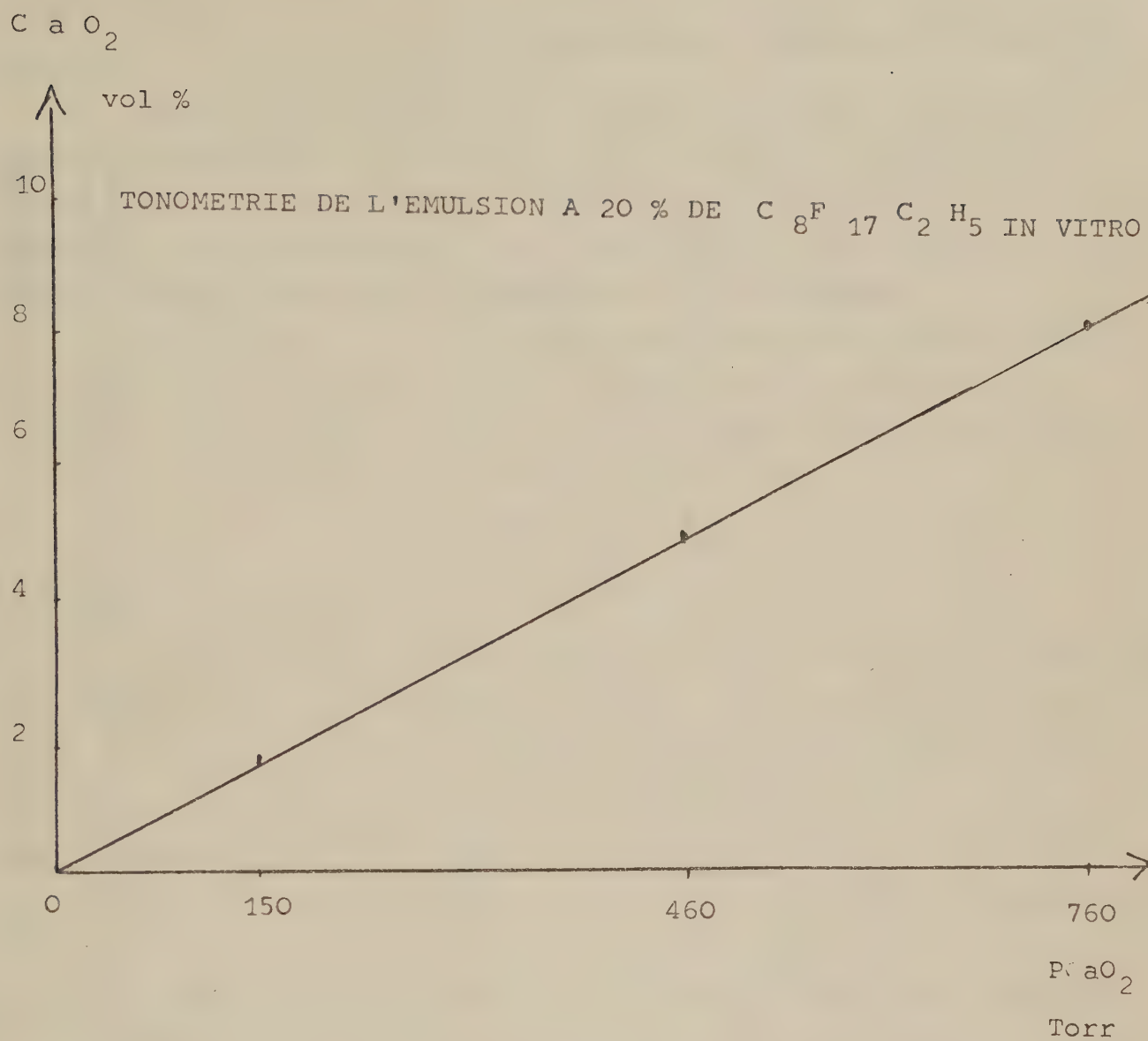
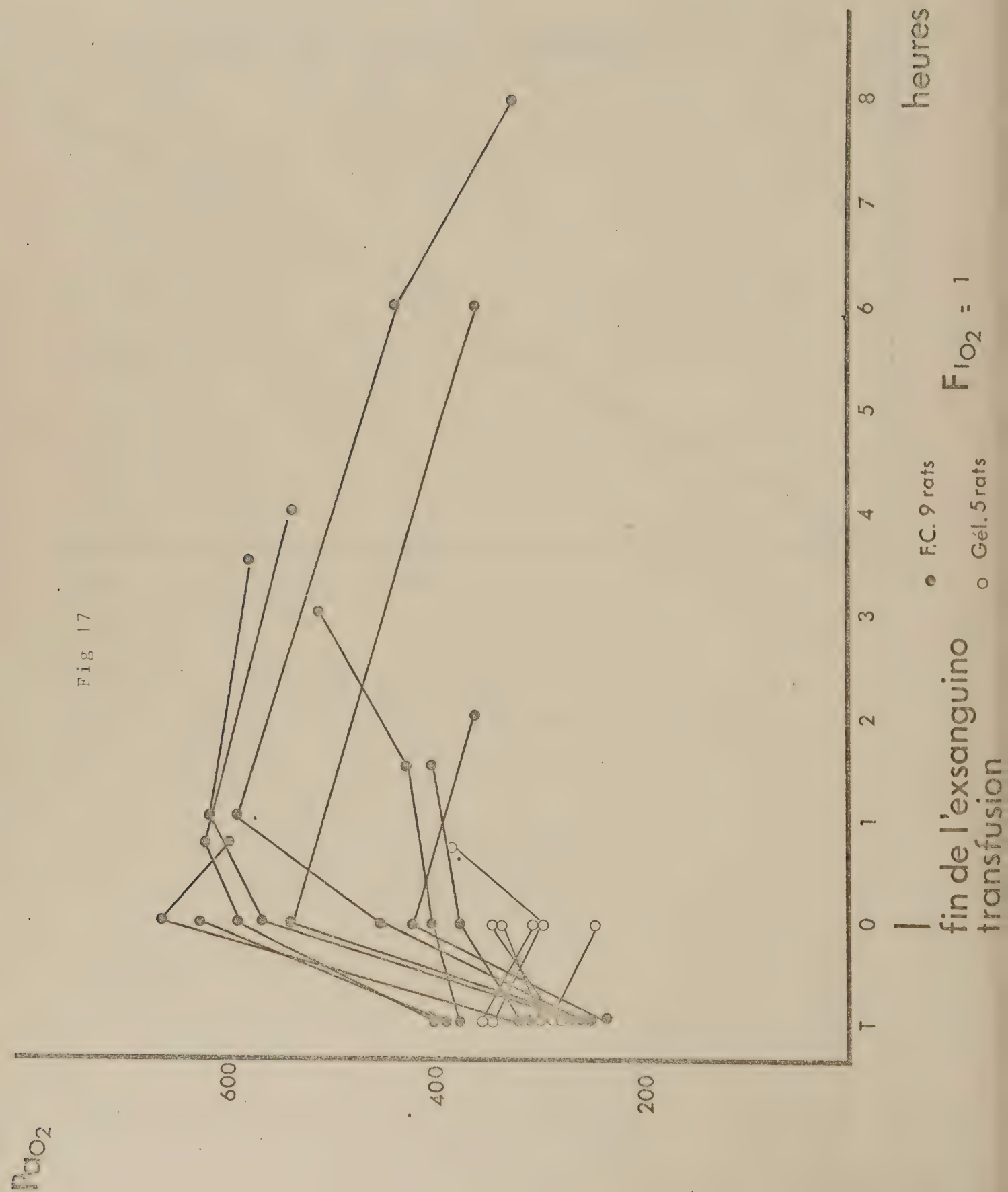


Fig 16

Fig 17



a- Tonométrie de l'émulsion de $C_8F_{17}C_2H_5$
in vitro (voir figure 16).

Nous avons déterminé la capacité de dissolution de l'oxygène de l'émulsion à 20% de $C_8F_{17}C_2H_5$ / PF-68 par tonométrie in vitro à 37° C, c'est à dire en mesurant la concentration en oxygène de l'émulsion en air , en O_2 pur, puis à 60,5 volumes% d'oxygène , chaque détermination comportant trois mesures.

En O_2 pur , à 37° C, nous avons obtenu une concentration de 8 volumes % , ce qui correspond à peu de chose près à la concentration attendue , étant donné la capacité de dissolution du FC pur et sa concentration dans l'émulsion.

b- PO_2 :

--Valeur de la PaO_2 :

• Les valeurs témoins trouvées chez l'animal en O_2 pur avant EST s'échelonnent entre 220 et 400 torr, soit une PaO_2 moyenne de 319. Il est probable que cette valeur basse s'explique par les effets de l'anesthésie , les animaux étant mal réveillés.

• La PaO_2 a été mesurée sur 33 échantillons pour les rats FC , 9 échantillons pour les rats-plasmion.

Elle s'échelonne entre 315 et 762 torr pour les échantillons FC

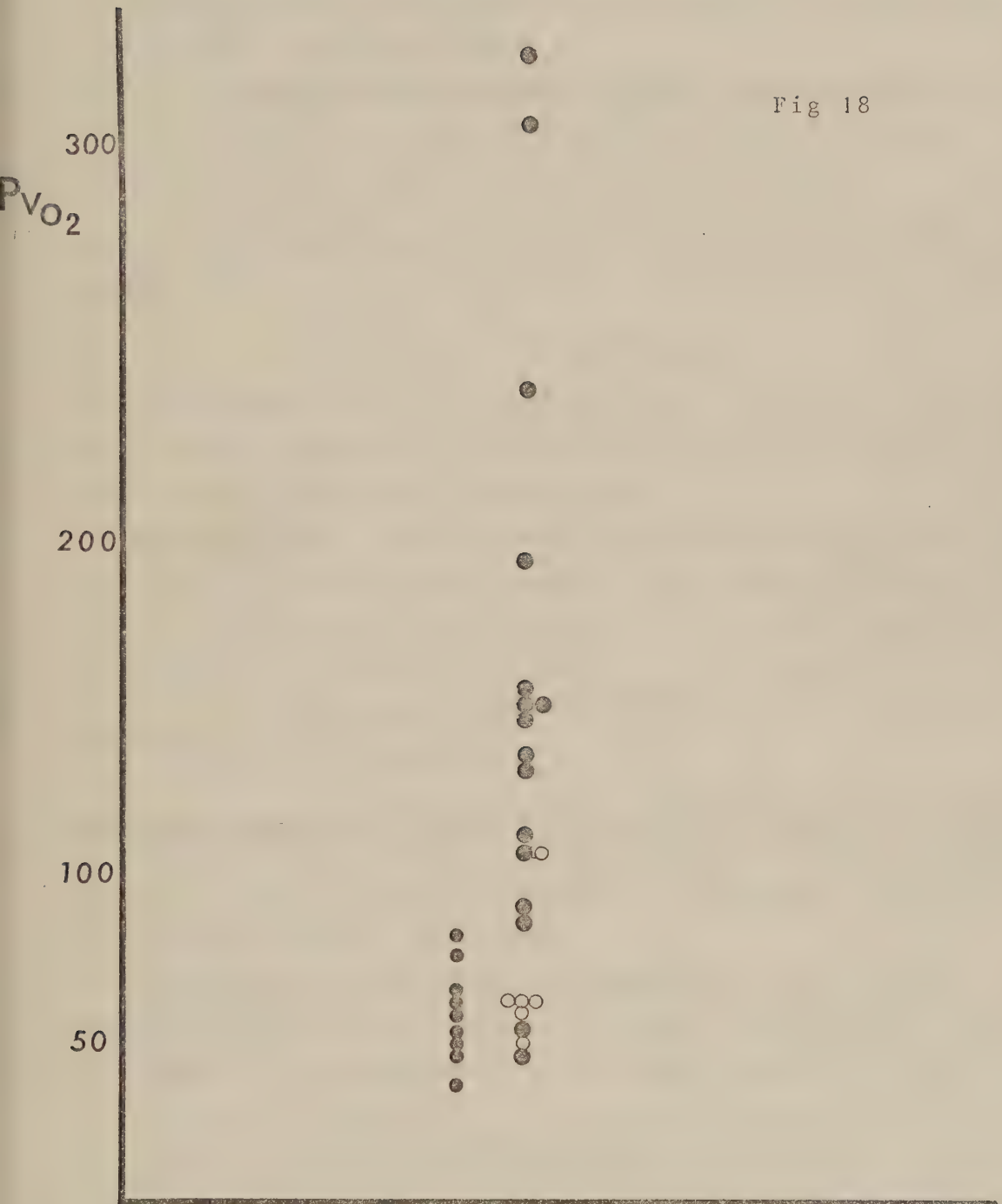
entre 231 et 385 torr pour les échantillons Plasmion .

En fin d'EST , chez les rats FC la valeur de la PaO_2 est comprise entre 365 et 640 torr, soit une PaO_2 moyenne de 513 torr.

Pour les rats-plasmion, la PaO_2 en fin d'EST est comprise entre 231 et 385 , soit une PaO_2 moyenne de 306 torr.

• Evolution en fonction du temps (voir figure 17).

Chez les rats exsanguinés , la PaO_2 chute légèrement au cours du temps, la baisse moyenne de la PaO_2 entre la fin de l'EST et le dernier prélèvement est de 77 mmHg avec un maximum de 147 et un minimum de 28. Par contre, chez 2 rats sur 7, la PaO_2 est stable ou monte même de 60 mmHg.



- Témoins
- F.C.
- Gél.

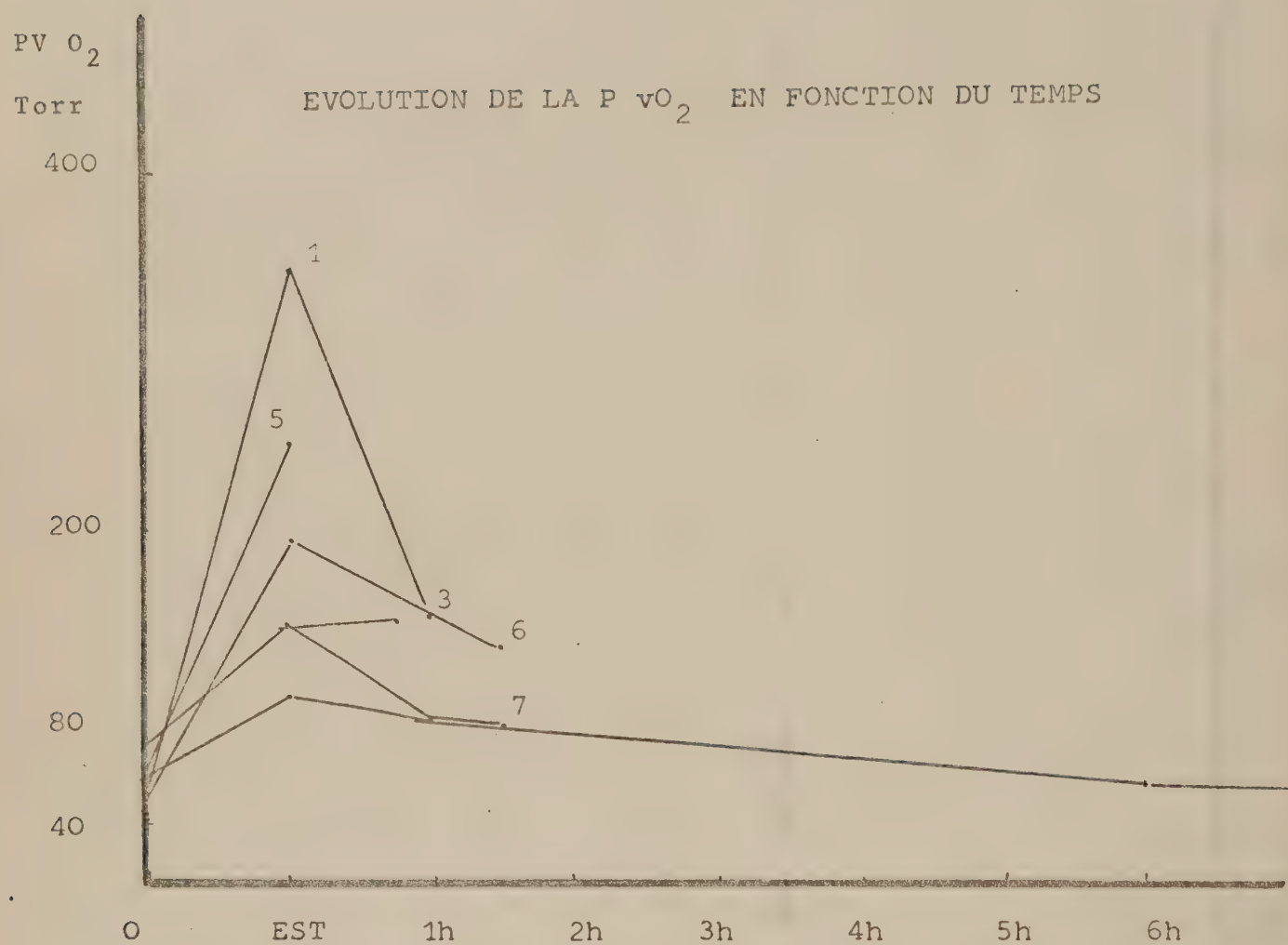


Fig 19

-- Valeur de la PVO_2 :

La figure 18 montre que les PVO_2 des animaux FC sont nettement supérieures aux valeurs témoins (animaux en O_2 pur avant EST) . En fin d'EST :

la PVO_2 moyenne des rats FC = 214,5 torr

la PVO_2 moyenne des rats plasmion = 70 torr.

la PVO_2 moyenne des témoins = 57 torr.

L'évolution de la PVO_2 en fonction du temps (figure 19) montre une diminution 1 heure à 1 heure 30 après la fin de l'EST.

c- La $PaCO_2$:

-- Les valeurs témoins sont comprises entre 35 et 64 torr, soit une valeur moyenne de 46,75 torr. Cette hypercapnie est à mettre sur le compte de l'anesthésie.

-- En fin d'EST , les valeurs de la $PaCO_2$ chez les rats FC sont nettement diminuées par rapport aux valeurs témoins, chez 6 rats sur 7. Chez un seul rat sur ces 6 , la $PaCO_2$ monte légèrement précédant une baisse ultérieure.

Les $PaCO_2$ sont comprises entre 11 et 43,5 torr, soit une moyenne de 27, 75 torr.

Chez les rats -plasmion, on note dans 2 cas sur 5 une élévation nette de la $PaCO_2$ dès la fin de l'EST, tandis que dans les 3 autres cas, elle chute légèrement , la valeur moyenne de la $PaCO_2$ est de 38,4 torr.

-- L'évolution en fonction du temps chez les rats FC (voir figure 20) montre que dans 6 cas sur 7, la $PaCO_2$ reste basse. Cette hypocapnie est liée à la polypnée et à la respiration en O_2 pur.

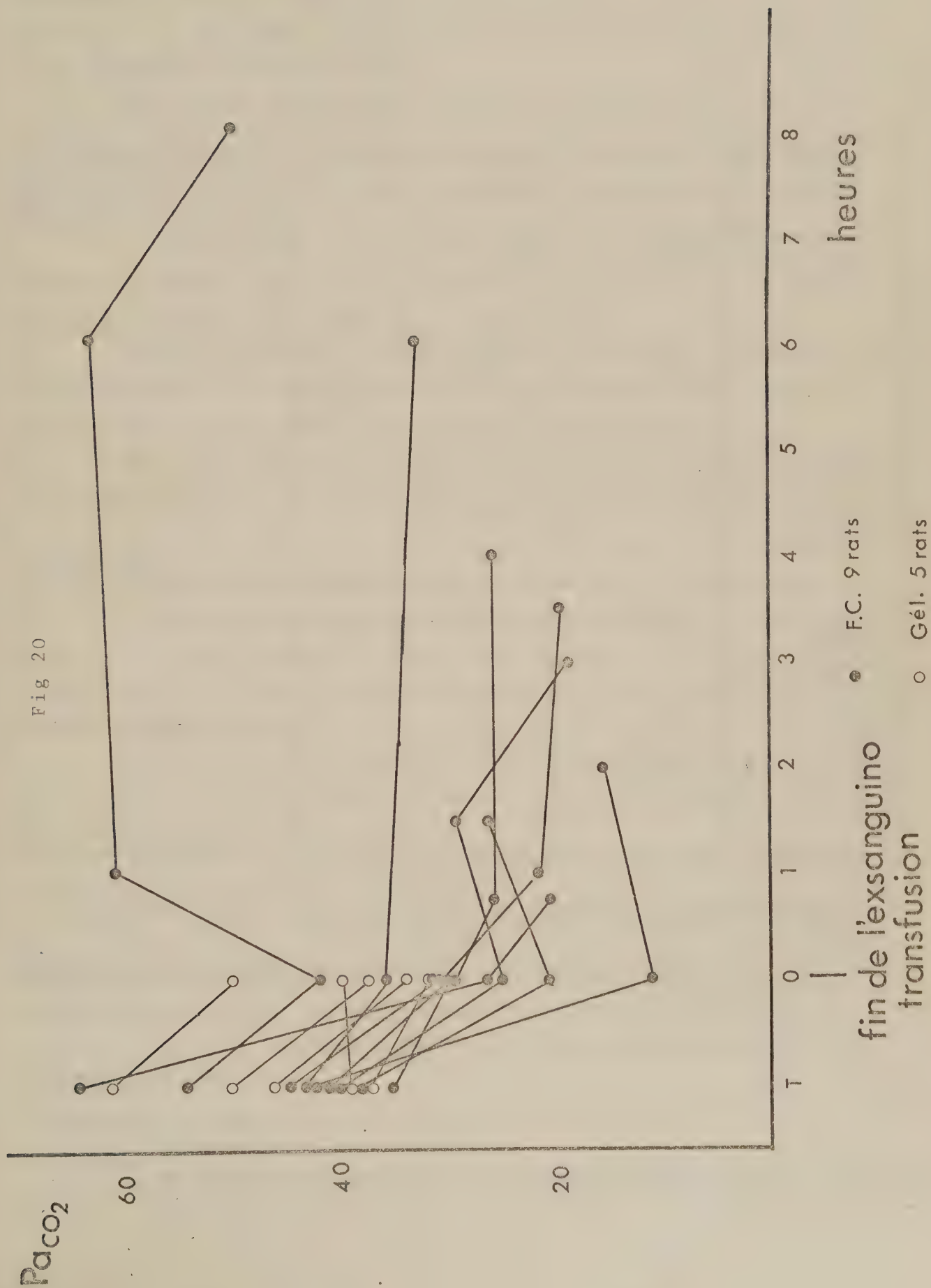
Dans 1 seul cas, la $PaCO_2$ est restée très élevée , que ce soit en fin d'EST où elle se situe à 43,5 torr (alors qu'elle nettement inférieure ou égale à 30 torr chez les autres rats), ou lors des prélèvements suivants où elle est stable à 62 torr.

d- Concentrations artérielles et veineuses en oxygène.

-- Les CaO_2

• Les CaO_2 témoins sont comprises entre 16,7 et 20,3 Vol/%

Fig 20



	Valeurs témoins	Rats/ FC en fin d'EST	Rats/ plasmion en fin d'EST
PaO ₂	319	513	306
PvO ₂	57	214,5	70
CaO ₂ moyenne (9 rats)	18,7	5,5	1,7
CvO ₂ moyenne (7rats)	11,1	2,3	
Ca-CV moyenne (7rats)	6,2	3,2	

COMPARAISON DES VALEURS MOYENNES DE PaO₂, PvO₂, CaO₂, CvO₂
 CaO₂-CvO₂ CHEZ LES TEMOINS, LES RATS FC ET LES RATS PLASMION
 EN FIN D'EST.

chez 11 rats sur 13 ; chez le 12ème rat , la CaO_2 témoin est à 24, la CVO_2 à 16, il est probable qu'il s'agit d'une erreur de mesure. Chez le 13ème rat, la PaO_2 témoin est à 14 vol/% , la CVO_2 à 7, la PaCO_2 est à 54 et on peut penser qu'il s'agit d'un surdosage anesthésique.

La valeur moyenne de la CaO_2 est de 18 ,7 vol/%.

• En fin d'EST , les CaO_2 chez les rats FC sont comprises entre 4,1 et 7vol/%, soit une valeur moyenne de 5,5 vol/%. Chez les rats-plasmion, la CaO_2 moyenne est de 1,7 vol/% .

• L'évolution au cours du temps : nous disposons d'au moins une mesure après la fin de l'EST chez 6 rats , se situant entre la 45ème et la 90ème mn , après l'EST.

Chez 4 rats FC, la CaO_2 augmente avec dans trois cas augmentation de la PaO_2 ; chez deux rats (N° 4 et N° 8) elle diminue de moitié, alors que la PaO_2 reste stable.

Chez les rats-plasmion, dans les 2 cas où nous disposons d'au moins une mesure , la CaO_2 chute assez nettement .

-- Les CVO_2 :

• Les valeurs témoins sont comprises entre 12 et 14 vol/% chez les 7 rats prélevés . Chez 2 autres rats, la CVO_2 est soit très élevée (erreur de mesure probable) , soit très basse (surdosage anesthésique).

• En fin d'EST, les CVO_2 n'ont été mesurées que chez les rats FC : elles sont comprises entre 1,2 et 3,3 vol/% , soit une valeur moyenne de 2,3 vol/% .

• Evolution en fonction du temps : nous disposons d'au moins deux mesures chez 5 rats FC :

• chez 2 de ces 5 rats (N° 3-6) , la CVO_2 baisse une heure 30 environ après la fin de l'EST ; chez ces 2 rats au même moment, la CaO_2 augmente nettement.

• Chez 3 rats , la CVO_2 reste stable ou ne diminue que faiblement.

-- Les CaO_2 - CVO_2 .

• La différence moyenne des concentrations artério-veineuses

en oxygène s'établit à 6,2 vol/% pour les témoins.

à 3,2 vol/% pour les rats FÇ, en fin d'EST.

• L'évolution de CaO_2 - CVO_2 :

- chez les rats N° 4 et 8 , la Ca - CV chute nettement une heure environ après la fin de l'EST, la CVO_2 restant assez stable , alors que la CaO_2 chute nettement.
- Chez le rat N°7, la Ca - CV augmente très légèrement comme la CaO_2 , la CVO_2 chutant légèrement.
- Chez les rats N°3 et 6, la CaO_2 - CVO_2 augmente au cours du temps, par chute de la CVO_2 alors que la CaO_2 augmente nettement.

Les variations simultanées de CaO_2 , CVO_2 , CaO_2 - CVO_2 , en fonction du temps chez les rats sont reportés sur la figure 21.

e- L'équilibre acido-basique:

L'étude de l'équilibre acido-basique montre (figure 22) que dans 6 cas sur 7, il n'y a ni acidose métabolique, ni acidose respiratoire, l'évolution se faisant vers une alcalose respiratoire non compensée.

Dans 1 cas sur 7, il existe une acidose respiratoire.

5- Le fluorocrite .

La mesure du fluorocrite a été déterminée chez 6 rats, les valeurs se situent en fin d'EST, entre 17 et 37 pour le fluorocrite artériel , entre 17 et 85 pour le fluorocrite veineux.

L'évolution au cours du temps a été déterminée chez 6 rats en ce qui concerne le fluorocrite artériel , chez 4 rats pour le fluorocrite veineux :

- chez 2 rats- N° 4 et 8- il existe une diminution nette des fluorocrites artériels et veineux , par dilution vraisemblable, ces 2 rats ayant reçu de multiples injections de protéines sérum salé, etc..
- Chez 2 rats - N° 3 et 6- il existe une augmentation nette des fluorocrites artériels et veineux.
- Chez 2 rats - N° 3 et 5- le fluorocrite veineux est augmenté

Evolution de $CaO_2-C_{VO_2}$

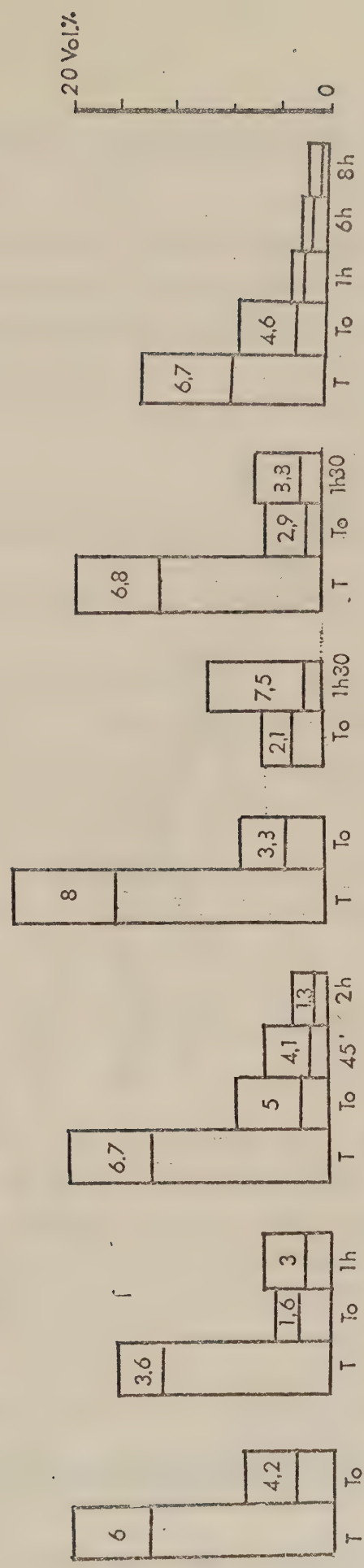
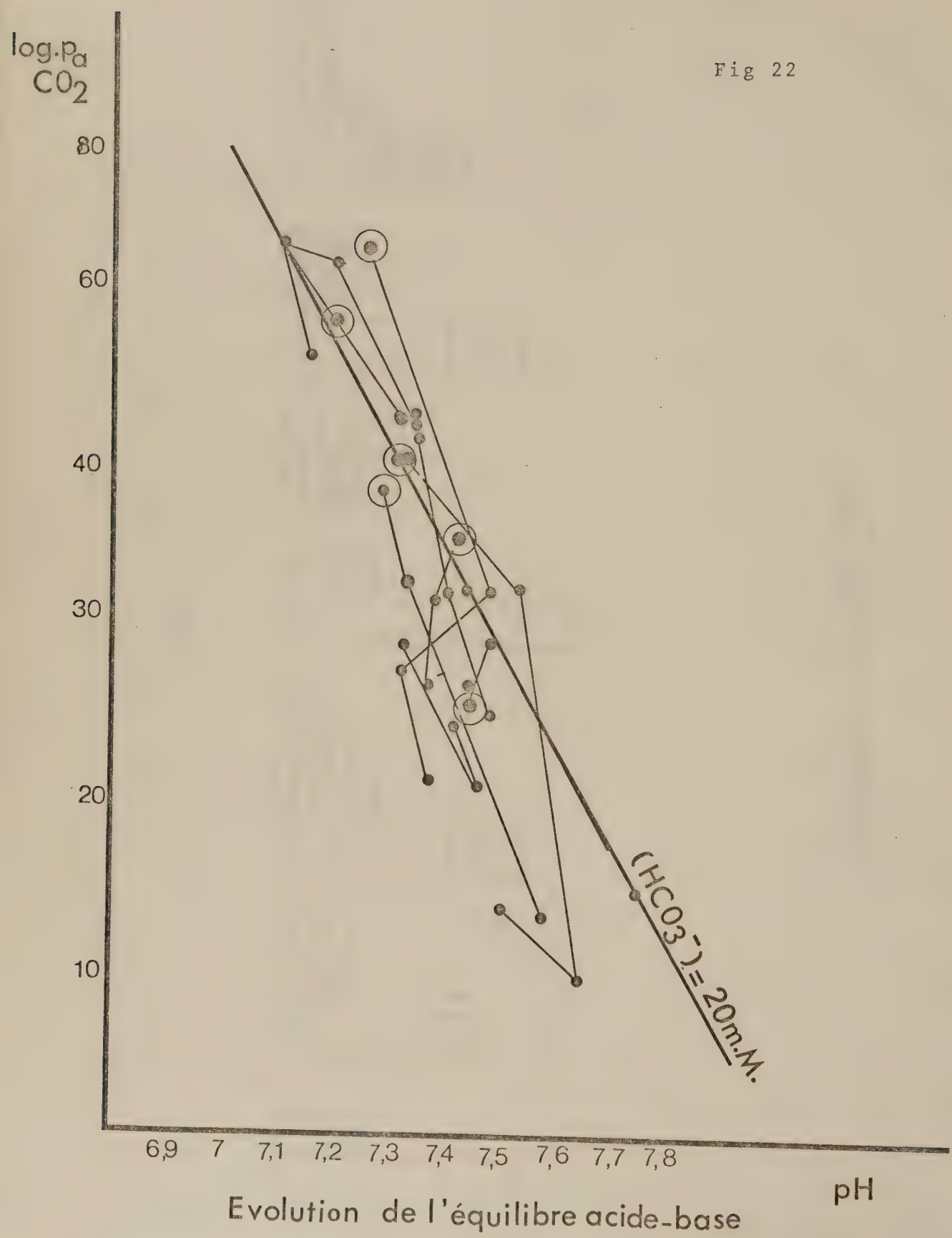


Fig 21



dès la première mesure, précédant l'augmentation du fluorocrite artériel.

6- Nous disposons à deux reprises de mesures des transaminases , chez 1 rat ayant subi une EST incomplète et ayant vécu 48 heures , les transaminases s'élèvent dès le premier jour augmentant encore le jour de la mort,

chez un autre rat en cours d'EST , les SGOT sont également élevées.

7- L'analyse chromatographique des urines.

Les urines ont été prélevées chez 5 rats, par ponction vésicale post-mortem :

- dans 4 cas , le taux de FC est inférieur à 15 ppm ,
- dans 1 cas, le taux de FC est de 6000 ppm, les urines étaient d'ailleurs mousseuses lors du prélèvement; il s'agit du rat N°8 , qui présentait un coma immédiat et un état de collapsus ayant nécessité des injections multiples.

Nous pouvons conclure qu'hormis ce cas non interprétable, que le FC n'est pas filtré par les reins , ce qui confirme les travaux précédents.

8- Compte-rendu d'autopsie et lésions histologiques.

a- Chez les rats ayant reçu soit du FC pur, soit des auto-émulsions, les lésions découvertes à l'autopsie sont stéréotypées: dans tous les cas, on observe une dilatation très importante des gros troncs veineux, et un aspect congestif du foie. Nous n'avons par contre jamais trouvé de thromboses récentes.

L'examen histologique confirme l'aspect congestif voire hémorragique du foie, et découvre des gouttelettes de FC dans les coronaires, les artères cérébrales et les artères pulmonaires, (chez 1 rat ayant reçu le FC pur , chez 1 rat ayant reçu une autoémulsion).

On peut admettre que ces autoémulsions sont très instables après leur introduction dans l'organisme, qu'il s'agisse soit d'un effet de l'organisme contre l'émulsion, soit d'une instabilité originelle.

b- Chez les rats ayant reçu l'émulsion $C_8F_{17}C_2H_5$ / PF-68 , on est frappé à l'autopsie par l'aspect des poumons lors de l'ouverture de la cage thoracique; poumons petits, collabés , avec épanchement pleural bilatéral fréquent.

On constate également que les reins sont plus gros que la normale.

L'examen histologique :

- confirme l'aspect de collapsus pulmonaire aigu, avec épaississement des parois alvéolaires par des macrophages contenant le FC; ces macrophages sont retrouvés dans la lumière alvéolaire, et la lumière de certains vaisseaux qui paraissent obstrués.

- Retrouve au niveau du foie ces macrophages ballonnés , contenant un matériel optiquement vide, sous forme de micro-vésicules, il est probable qu'il s'agisse du FC injecté.

c- Nous avons sacrifié à trois semaines un rat ayant reçu 40 ml/kg de la même émulsion $C_8F_{17}C_2H_5$ /PF-68 ; aucune lésion n'a été retrouvée au niveau hépatique , hormis des îlots d'hyperplasie kupp fériennes autour de certaines veines centro-lobulaires.

Les lésions histologiques que nous avons observées recourent absolument les résultats de la littérature, qu'il s'agisse des lésions pulmonaires ou de la présence de macrophages hépatiques et pulmonaires captant le FC. Le fait qu'à la 3ème semaine, ces macrophages ne soient pas retrouvés au niveau du foie fait penser que le $C_8F_{17}C_2H_5$, malgré sa tension de vapeur (7 mmHg) et sa structure chimique , est rapidement éliminé de l'organisme. Cela demande à être confirmé par des examens histologiques plus précis, en particulier par microscopie électronique.

III- DISCUSSION.

A- En ce qui concerne les autoémulsions, nos résultats montrent leur toxicité importante, par rapport à l'émulsion que nous appelons classique, malgré des doses plus faibles (3 à 12 ml/kg contre 40 ml/Kg) .

Dans le but d'éclaircir les causes de cette toxicité, nous avons injecté une solution d'ions fluor à la concentration de 100 micromoles/litre , supérieure à la concentration retrouvée dans les autoémulsions. Aucun signe de toxicité n'a été observé. Il ne semble donc pas possible d'attribuer la toxicité des autoémulsions aux ions fluor.

Nous noterons au passage que la quantité d'ions fluor présente dans les autoémulsions est très inférieure à celle des émulsions classiques (PP9 /PF-68 ou $C_8F_{17}C_2H_5$ /PF-68), atteignant 200 à 400 micromoles/litre avant passage sur résine.

Par contre, si l'émulsion de contrôle E 2 (PP9 + S 1 + S 2) entraîne le décès de tous les animaux , l'émulsion E 3 (PP9 / PF-68 + S 2) injectée à la même dose chez des rats de poids comparable n'est pas létale.

Ce mode d'autoémulsionnement représente donc sûrement un parmi les facteurs possibles de toxicité :

- S'agit-il d'une toxicité particulière de S 1 de formule cependant très proche de S 2

- ou d'une toxicité liée à la présence d'un couple de surfactants ?

- S'agit-il d'une pression colloïde insuffisante , par absence de Pluronic ? En fait, ce facteur de non-maintien de la volémie ne doit pas jouer aux doses injectées .

- S'agit-il d'une toxicité liée à certains caractères mêmes de ces autoémulsions (hyperviscosité ?) .

- A notre avis, l'instabilité de ces autoémulsions est la première cause à envisager , puisque les lésions histologiques pulmonaires sont très proches des lésions observées avec

les FC purs (la présence de gouttelettes de FC témoignant de la destruction de l'émulsion dans l'organisme).

B- En ce qui concerne les EST.

a- Nos résultats confirment la supériorité d'une émulsion de FC par rapport à une solution colloïde comme substitut du sang, c'est à dire essentiellement comme transporteur d'oxygène :

- Le délai de survie des rats FC est significativement supérieur à celui des rats -plasmion .

- La concentration artérielle en oxygène moyenne est de 5,5 vol. % pour les rats FC contre 1,7 vol.% pour les rats-plasmion en atmosphère d'O₂ pur (voir tableau).

b- Capacité de dissolution de l'oxygène.

En raison de cette CaO₂ moyenne faible, vis à vis de celle théoriquement attendue (8,8 vol. %), nous avons :

-- vérifié in vitro par tonométrie la capacité de dissolution de l'oxygène de notre émulsion, qui s'est révélée à peu de chose près identique à celle calculée.

-- Vérifié alors si les résultats in vivo confirmaient les résultats obtenus in vitro: nous avons reporté sur la figure 23 toutes les mesures de PO₂- CO₂ effectuées (33) chez les rats FC : si un certain nombre est situé autour de la droite mesurée in vitro (droite A) , il existe une dispersion assez grande de plusieurs autres.

La droite de régression (droite B) calculée à partir de l'ensemble des points est-elle différente de la droite A ?

Equation de la droite A :

$$\text{CO}_2 = 0,0105 \text{ PO}_2 \quad 0,0105 \text{ représentant la pente de la droite}$$

A.

Equation de la droite de régression B :

$$\text{CO}_2 = 0,00821 \text{ PO}_2 + 0,84 \quad (0,00821 = \text{pente de la droite}).$$

Fig 23

A: $y = 0.0105x$
 B: $y = 0.0082x + 0.84$

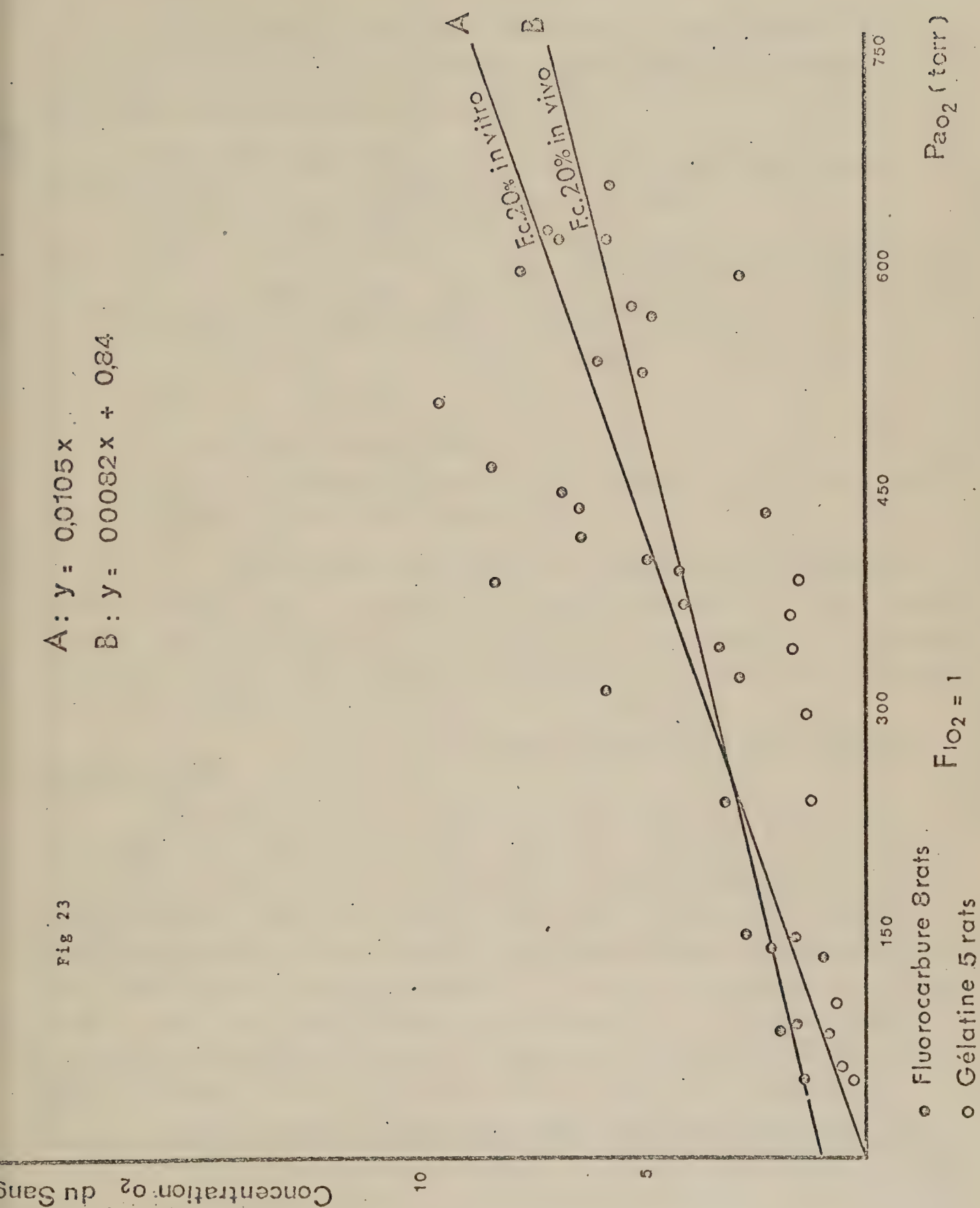
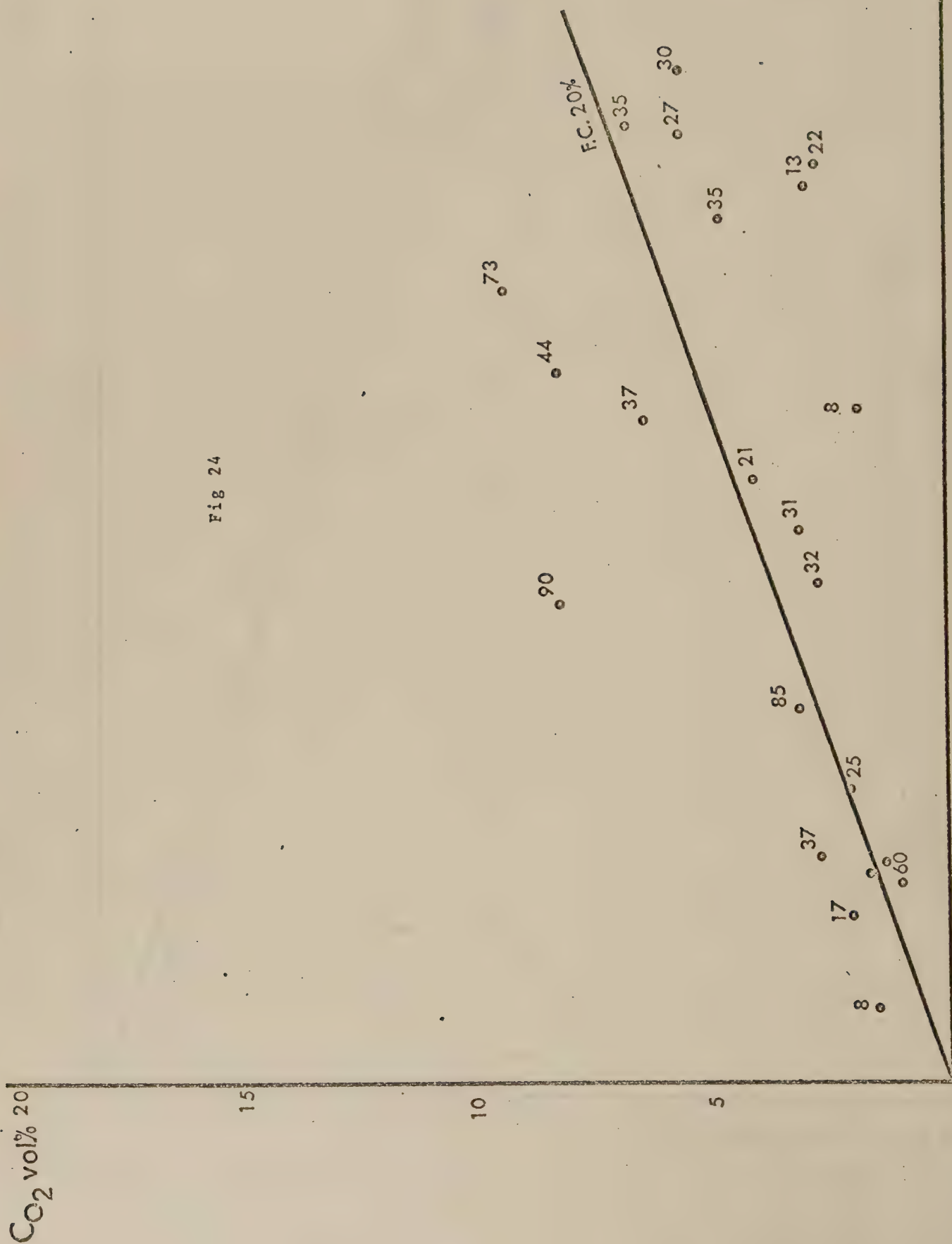


Fig 24

PO₂

l-fluorocarbon d. fluorocarbon

Coefficient de corrélation $r = 0,77$, significatif à $0,01$.

Cela signifie qu'il existe bien une relation linéaire entre les PO_2 et les CO_2 mesurées in vivo.

Nous avons également vérifié que les pentes des droites A et B ne sont pas significativement différentes :

Pour la courbe mesurée Sy. $x = 1,38$.

$So = 0,50$ (So = écart -type sur le coefficient $0,84$).

$S1 = 0,0082$ ($S1$ = écart-type sur la pente de la droite).

$$t = \frac{\text{pente théorique} - \text{pente réelle}}{S1} = \frac{0,0105 - 0,00821}{0,0082} = 1,89$$

ddl = 31 $n = 33$

t est significatif à $0,05$

Donc, la probabilité pour que les pentes des droites A et B soient différentes est inférieure à 5%.

Nous pouvons donc affirmer, avec moins de cinq chances sur cent d'erreurs, que la capacité de dissolution de l' O_2 de notre émulsion in vivo est identique à la capacité de dissolution de l'émulsion in vitro. Il n'y a donc pas eu de modification du principal caractère de l'émulsion après l'introduction dans l'organisme.

c- Y-a-t-il eu modification d'un autre de ces caractères ?

Les mesures du fluorocrite nous ont montré en effet dans plusieurs cas d'importantes variations dans les deux sens. Les points situés les plus au-dessus de la droite A correspondent à des fluorocrites élevés ($90\% - 73\% - 50\%$), les points situés les plus au-dessous correspondent généralement à des fluorocrites bas ($8\% - 13\%$) (voir fig. 24) On pouvait donc se demander si ces points extrêmes ne correspon- daient pas à des variations de la concentration en FC de l'émulsion (soit par hémococoncentration par absence de pression colloïde suffi- sante, soit par hémodilution par apports liquidiens importants).

En fait, le CO_2 mesuré dans ces cas où le fluorocrite est

trouvé élevé est très inférieur au contenu en O_2 théoriquement attendu pour un tel pourcentage , ce qui nous laisse penser que, les fluorocrites^{qu} étant d'ailleurs difficiles à lire, ils ne représentent qu'un moyen très approximatif d'appréciation de la concentration en FC.

d- L'évolution des gaz du sang.

-- La figure montre dans tous les cas une diminution modérée de la PaO_2 au cours du temps. On peut rapprocher ce fait des lésions histologiques pulmonaires constatées .

L'évolution de la PVO_2 en fonction du temps montre dans tous les cas une élévation nette chez les rats FC (moyenne : 214,5 torr contre 57 chez les témoins), puis une diminution secondaire jusqu'à un chiffre qui reste supérieur aux valeurs témoins.

Une telle élévation de la PVO_2 peut être due :

- soit à une augmentation du transport de l' O_2 dissous,
- soit à une diminution de la demande de l'organisme,
- soit à un shunt capillaire périphérique .

A notre avis, elle s'explique par les caractères de dissolution de l'oxygène dans le FC :

Durant le temps de passage capillaire, le sang délivre tout d'abord la faible quantité d'oxygène dissous qu'il contient, ce qui fait très rapidement chuter la PO_2 à 100 , ensuite, l'oxygène lié à l'hémoglobine, pour de faibles variations de PO_2 ; par contre, pour le FC, la délivrance de l'oxygène est plus régulière, mais plus lente , et au bout du même temps , la PO_2 est encore élevée à 200 ou 300 tcrr, malgré un contenu délivré moins important.

-- Quant à la diminution secondaire de la PVO_2 , elle peut être due :

- soit à la baisse du débit cardiaque ,
- soit à l'augmentation de la demande de l'organisme,
- soit à la perte de la capacité de transport de l'oxygène par l'émulsion.

$$\frac{Ca - Cv}{Ca}$$

EVOLUTION DU COEFFICIENT

RAT N°	TEMOIN	FIN D'EXSANGUINO- TRANSFUSION	VALEURS SUIVANTES
1	0,3	0,6	
2	0,22	0,35	0,53
3	0,33	0,72	0,46
4	0,33	0,5	0,89
5	0,33	0,5	
6	0,36	0,7	0,67
7	0,48	0,66	0,33 - 0,32 - 0,70

Fig 25

Ce 3ème point a été réfuté précédemment. La diminution du débit cardiaque affirmée par CLARK , en raison probablement de la diminution du débit cardiaque observée en conditions d'hyperbarie , nous paraît peu vraisemblable, comme nous l'avons vu les PO_2 ne reflètent absolument pas les concentrations en oxygène , or celles-ci sont basses dès le début par rapport aux concentrations physiologiques, il serait surprenant qu'il y ait diminution du débit cardiaque alors que le rat est en manque d'oxygène.

La 2ème hypothèse nous paraît plus séduisante :

-- en effet, dans tous les cas, il existe (figure 25) une augmentation du coefficient d'extraction de l'oxygène ($\frac{Ca - CV}{Ca}$)

- par rapport aux valeurs témoins ,
- au cours de l'évolution dans le temps.

Cette augmentation n'est pas surprenante étant donné la faible CaO_2 (5,5 vol.% contre 18 ,7 vol.% pour le sang témoin); l'oxygène extrait par les tissus des rats FC représente plus de la moitié de la concentration artérielle , alors que chez les rats témoins, il ne représente que le tiers.

Cette augmentation du rapport $\frac{Ca - CV}{Ca}$ se fait :

• dans 3 cas (rats N° 3-6-7) par augmentation de la CaO_2 et diminution de la CVO_2 : l'élévation de la CaO_2 s'expliquant par l'élévation de la PaO_2 et, peut être, l'élévation du fluorocrite, la diminution de la CVO_2 s'expliquant par l'adaptation du temps de circulation capillaire à l'insuffisance de l'apport artériel.

• Dans 2 cas , par chute de $Ca - CV$ inférieure à la chute de la CaO_2 ; chez le rat N°8 la diminution progressive des contenus s'explique par l'hémodilution importante; on s'explique mal chez le rat N°4 , la diminution importante de la CaO_2 malgré une PaO_2 restant élevée à près de 600 torr, sans modification du

fluorocrite: il s'agit d'erreurs de mesure probablement.

On peut se demander pourquoi le rat n'extraît pas plus encore d'oxygène ? Arrive-t-il aux limites de sa capacité d'adaptation?

EN CONCLUSION:

Cette étude nous a permis, grâce à la mesure des gaz du sang et des concentrations en oxygène, de vérifier que l'émulsion de fluorocarbure $C_8F_{17}C_2H_5$ /PF-68, introduite dans l'organisme conserve une capacité de dissolution de l'oxygène analogue à celle que l'on attendait des études in vitro.

La valeur moyenne de ces CaO_2 et PaO_2 inférieure à celle espérée en atmosphère d'oxygène pur peut s'expliquer au départ par les effets prolongés de l'anesthésie, ensuite par l'existence de lésions histologiques pulmonaires constatées lors de l'autopsie des animaux.

Nous avons prouvé que l'émulsion utilisée non seulement dissout l'oxygène, mais également le libère au niveau des tissus, l'organisme réagissant à un apport insuffisant en O_2 par une augmentation de l'extraction.

Le problème essentiel à nos yeux à régler pour améliorer nos résultats est celui de la qualité de l'émulsion:

-- l'émulsion testée au cours des EST n'est pas efficace en ce qui concerne le maintien de la volémie et la taille des micelles est supérieure à celle qui est recommandée. Un effort devra donc être fait en ce qui concerne, et l'établissement d'une pression colloïde satisfaisante, peut être par addition d'amidon hydroxyéthylé, et la taille des micelles.

-- Les autoémulsions, plus satisfaisantes en ce qui concerne la taille des micelles, sont malheureusement instables, puisque

	1		2		3		4		5	
	T	EST	T	EST	T	EST	T	EST	T	EST
P a O ₂	262	347	350	300	300	344	287	240	342	300
P a CO ₂	46	32	61	50	50	37	39	40	38	33
C a O ₂	19,2	1,7	17,4	1,4	19,1	1,9	19,8	1,8	17,1	1,8
						1,5				1,1

RESULTATS DES MESURES DE LA P a O₂ , P a CO₂ ET DE C a O₂ CHEZ LES RATS AYANT SUBI UN EST

AVEC LE PLASMION

	1		2		3	
	T	EST	T	EST 45' 4h	T	EST 1h 1h30
P aO ₂	387	625	398	583 623 540	252	570 620 578
P vO ₂	61	325			55	344 148
PP aCO ₂	45	32	35	30 26 27	42	31 23 20
C a O ₂	20	7	20,1	5,3 6,7 6	16,7	4,9 5,7
C v O ₂	14	2,8			13,1	3,3 2,7
C a CV	6	4,2			3,6	1,6 3
fluorocrit						
artère			31	57 23		
veine					27	27 42
					31	37

	7		8	
	T	EST 1h30	T	EST 1h
Pa O ₂	317	373 405	233	451 590
Pv O ₂	64	107 86	35	146 85
Pa CO ₂	38	21 27	54	43,5 62
Ca O ₂	19	4,1 4,9	14	6,9 3
Cv O ₂	12,2	1,2 1,6	7,3	2,3 2
Ca CV	6,8	2,9 3,3	6,7	4,6 1
artère				
veine			17	13
			17	17

RESULTATS DES MESURES P aO₂

CHEZ 9 RATS AYANT SUBI UNE EST PAR FLUOROCARBURE

	4		5		6	
	T	EST 45'	T	EST 2h	T	EST 1h30 3h
	320	662 598	269	440 360	376	402 459 515
	45	145 146	80	244	47,5	192 136
	64	28 21	43	11 16	40	25 29 17
	20,3	5,7 2,8	24	6,5	18	4,2 8,4
	13,6	1,6 1,5	16	3,2	12	2,1 0,9
	6,7	4,1 1,3	8	3,3	6	2,1 7,5
	30	22		37 90	21	44 73
	30	24		85	25	59

	9	
	T	EST 6h
6 h 8h	443 325	267 540 360
	54 45 49	
	64 56 43	37 34
	2,2 1,1	
	1,5 0,6	
	0,7 1,5	
	8 2	
	8 2	

EST = fin EST

P vO₂ , P aCO₂ , C aO₂ , C vO₂

CONCLUSIONS .

Depuis 1966 les fluorocarbures (F.C.) sont expérimentés comme fluides transporteurs d'oxygène en raison de leur capacité importante de dissolution des gaz. Celle ci est réduite au prorata de la concentration en fluorocarbures dans les émulsions obligatoirement utilisées par voie intra veineuse (vu la toxicité des fluorocarbures purs) nécessitant le recours à l'oxygène pur ; malgré cela dans les émulsions habituellement utilisées, elle est inférieure à celle du sang.

De l'étude de leur métabolisme et de leur toxicité se dégage un certain nombre de relations entre, d'une part la structure, les propriétés physico chimiques des FC et les caractères de leurs émulsions et d'autre par le métabolisme et la toxicité des FC dans l'organisme. De ces relations découle un certain nombre de critères de sélection des FC pour l'utilisation en tant que sang artificiel, concernant : la taille des micelles de l'émulsion, la tension de vapeur des FC utilisés, la nature de l'émulsionnant.

Les expérimentations jusqu'à présent se sont poursuivies dans 3 voies principales :

- . sang artificiel pour la perfusion soit d'organes isolés soit d'organismes entiers.
- . respiration liquidienne de type branchial.
- . oxygénéateur extra corporel liquide-liquide.

En ce qui concerne l'utilisation du sang artificiel la capacité de transport de l'oxygène et du CO₂ est attestée par la survie plus ou moins longue des animaux mais les données biologiques restent encore fragmentaires. Les différences de résultats observés tiennent selon nombre d'auteurs aux différences entre les émulsions portant sur plusieurs facteurs.

Notre expérimentation personnelle utilisant le FC chez le rat confirme la supériorité des émulsions de FC par rapport aux produits de remplissage type gélatine modifiée en ce qui concerne la durée moyenne de survie grâce à l'apport d'oxygène. La mesure des

gaz du sang et du contenu en oxygène confirme cette capacité de dissolution que l'on pouvait attendre des études in vitro ; toutefois dans un certain nombre de cas il existe des discordances entre valeurs des pressions partielles et des contenus en oxygène dont la cause est discutée.

La qualité de l'émulsion intervient dans une large mesure :

. En effet l'auto émulsion dont l'avantage est la reproduction par simple agitation manuelle s'est révélée toxique à faibles doses. Les causes de cette toxicité méritent d'être analysées ultérieurement.

. L'émulsion classique à base de Pluronic 68 obtenue par ultrasons a été mieux tolérée. Cependant, l'apparition d'un choc progressif chez tous les animaux , l'augmentation du fluorocrite témoignant de la concentration en FC, fait douter des qualités de l'émulsion en tant que produits de remplissage vasculaire. Les travaux ultérieurs devaient s'attacher à déterminer si la pression "oncotique" de ce type d'émulsion est satisfaisante.

Vu le Directeur de l'U.E.R.
GRANGE BLANCHE.

B. SALLE.

Le Président de la Thèse.
(Nom et signature)

Vu et Permis d'imprimer
Lyon, le 8 juin 1976

Le Président de l'Université
Président du Comité de Coordination
des Etudes Médicales.

D. GERMAIN.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- Advances in fluorine Chemistry.
Edit. TATLOW J.C.- (Butterworth London), vol.I(1960), vol.VII
(1973).

- 2- AEROSPATIAL Méd.
Gas embolism due to intravenous F.C.80 liquid fluorocarbon.

- 3- ALEXANDER Benjamin-KANAME Odake-LAWLOR Dolorès-SWANGER M.
Coagulation, hémostasis and plasma expanders , a quarter
century énigma.
Fed. Proc. 1975, vol.34,N°6, p.1429-40.

- 4- ANDERSON R.M.
Liquid-liquid contactor for extracorporeal blood oxygenation.
Trans. Amér. Soc. artif. Int. Organs, 1970, 14: 375.

- 5- ANDJUS R.K., SUHARA K., SLOVITER H.A.
An isolated perfused rat brain preparation, its spontaneous
stimulated activity.
J. Appl. Phys. 1967, 22, 1033-39.

- 6- BALDWIN J.E.
Chelating agents as possible artificial blood substitutes.
Fed. Proc. 1975, vol.34, N°6, p.1441-1443.

- 7- BEISANG A.A.- FEEMSTER J.- DIETZMAN R.H.- UCHIDA H.-CARTER J.E.-
GRAHAM.E.F.- and LILLEHEI R.C.
Damage assay of kidneys frozen by intraartériel perfusion with a
fluorocarbon.
Fed. Proc. 1970, vol.29, N°5, p.1782-88.

- 8- BERKOWITZ, MENDHAM, HILLER, SLOVITER.
use of fluorochemicals for renal perfusion.
Trans. Amér. Soc. Artif. Int. Organs. 1971, 17, 266-271.

9- BICHER- KENEAU- BRULEY- KNISELY.

Brain oxygen supply and neuronal activity under normal and hypoglycemic conditions.

Am. J. Physiol. 1973, 224, 311-404.

10- BONNARD K.

Acute oxygen supply by infusion of hemoglobin solutions.

Fed. Proc. 1975, vol.34, N°6, p. 1466-1467.

11- BOREN H.G.

Deposition and removal of carbon particles by fluorocarbon breathing.

J. Proc. 1970, T.25, N°9, 1737-1739.

12- BROWN H.- HARDISON W.G.

Fluorocarbon sonicated as a substitute for erythrocytes in rat liver perfusion.

SURGERY, 1972, marsh, 71, N°3, 388-394.

13- BROWN H. and HARDISON W.G.

Fluorocarbon liver perfusion and fluorocarbon-glycin interaction.

Fed. Proc. 1975, T.34, N°6, 1516-1517.

14- CALDERWOOD H.W.- MODELL J.H.- RUIZ B.C.- BROWDON J.E.- HOOD C.I.

Pulmonary lavage with liquid fluorocarbon in a model of pulmonary Edema.

Anesthésiology, fév. 1973, T.38, N°2, p.141-144.

15- CALDERWOOD, MODELL.

Morphological and biochemical changes in dogs after ventilation with Caroxin D fluorocarbon.

Anesthésiology, nov.1973, 39, p.488.

16- CHABERT P.- FOUILLETIER L.-LANTZ A.

Procédé de préparation de liquides à application biologique et transporteurs d'O₂.

Pechiney Ugine Kulhman. Brevet, Fr. N° 73.39533 (nov. 1973)

17- CHIOW W et Al.

A simple and ultrasensitive head-space chromatographic gaz method for the assay in fluorocarbon propellants.

Res. Commun.Chem.Pathol. Pharmacol. 1973, 6, N°2, 481-98.

18- CLARK L.C.- GOLLAN F.

Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at atmospheric pressure.

Science, 1966, 152, 1755-56.

19- CLARK L.C.- KAPLAN F.-BECATTINI et G. BENZING.III-

Perfusion of whole animals with perfluorinated liquid émulsions using the Clark bubble- defoam heart-lung machine.

Fed. Proc.1970, 29, N°5, 1764-1770.

20- CLARK L.C.- KAPLAN - BECATTINI F.

The physiology of synthetic blood.

J. Thoracic and C.V. Surgery, 1970, 60, 757-773.

21- CLARK L.C.Jr- BECATTINI F.- KAPLAN S.-OBROCK V.-COHEN D.-
BECKER C.

Perfluorocarbons having a short dwell time in the liver.

SCIENCE 1973, 181, 680-682.

22- CLARK L.C.- BECATTINI , KAPLAN S.

Des émulsions de fluorocarbone peuvent-elles tenir lieu de sang artificiel ?

TRIANGLE, 1973, 13, 85-96.

23- CLARK L.C.- KAPLAN S.

Fluorocarbon emulsions as artificial blood.

2 nd Winter Fluorine Conf. St-Petersburg-Florida-fév.1974.

24- CLARK L.C.

Application de perfluorocyclocarbures comme agents de transport de gaz pour les animaux.

Brevet d'Invention, fév.1974, 2218903.

25- CLARK L.C.- WESSELER, KAPLAN S. et Col.

Emulsions of perfluorinated solvents for intravascular gas transport
Fed. Proc. 1975, vol.34, N°6, 1468-1477.

26- CLARK L.C.- KAPLAN S.- EMORY C.- WESSELER E.P.

Perfluorodecalin emulsion infusion in an awake Rhesus monkey.
Erythrocyte structure and Function, 1975, 583-596.

27- DIXON D.- and HOLLAND D.G.

Fluorocarbons: properties and synthesis.
Fed. Proc. 1975, vol. 34, N°6, 1444-1448.

28- DUNDAS- HOWLETT-KAY.

Fluid fluorocarbon as a oxygenator in prolonged experimental
extracorporeal circulation.
Journal of thoracic and Cardiovascular Surgery, 2 Août 1967,p.213-
215.

29-DUNDAS D.F.

Fluorocarbon-liquid oxygenator.
Fed. Proc. 1970, 29, 1771-1772.

30- FUJITA T. et Al.

Simulated blood.
Saishin Igaku, 1970, 2208-2211.

31- FUJITA T.- SUMAYA T.- YOKOYAMA K.

Fluorocarbon emulsions as a candidate for artificial blood.
Eur. Surg. Res. 1971, 3, 436-53.

32- GEYER R.P.

Whole animal perfusion with fluorocarbon dispersions.
Fed. Proc. 1970, 29, N°5, 1758-1763.

33- GEYER, TAYLOR, DUFFETT.

Successful complete replacement of the blood of living rats with
artificial substitutes.
Fed. Proc. 1973, 32, 927.

34- GEYER R.P.

Fluorocarbonyl-polyol artificial blood substitutes ..
New-Engl.J.Med., 15 nov.1973, T.289:20, 1077-1082.

35- GEYER R.P.

Bloodless rats through the use of artificial blood substitutes.
Fed. Proc. 1975, vol.34, N°6, 1499-1505.

36- GEYER R.P.

Potential uses of artificial blood substitutes.
Fed. Proc. 1975, vol.34, N°6, p.1525-28.

37- GOLLAN-CLARK.

Prevention of bends by breathing an organic liquid.
Trans. Assoc. Amer. Phys. 1967, T.29, 102-110.

38- GOLLAN F.-Mc DERMOTT J.-JOHNSON A.E.- NAMON R.

Compliance and diffusion during respiration with fluorocarbon fluid.
Fed. Proc. 1970, 29, N°5, 1725-1730.

39- GOLLAN F.-Mc DERMOTT J.- DUGGER A. and MUSIL.

Experimental study of perfusion of rabbits with fluorocarbon fluid in the acute asanguineous state.
Resuscitation, 1972, T.1, 235-246.

40- GOODMAN M.N.- PARILLA- TOEWS J.C.

Influence of F. emulsions on hepatic metabolism in perfused rat liver.
Amer. J. of Physiol., déc.1973, N°6, vol.225, 311-404.

41- HALL C.A.

Perfluorocarbon emulsion in the perfusion of canine organs.
Fed. Proc. 1975, T.34, N°6, 1513-1514.

42- HARRIS G.W.- ANDERSON R.M.et DE FILLIPI G.P.

The physiological effects of fluorocarbon liquids in blood oxygenation.
J. Biomed.Mat.Res. 1970, 4: 313-339.

43- HARRIS W.S.

Aerosol propellants are toxic to the heart.

J.A.M.A. , 1973, 223, 1508-1509.

44- HENRY R.L.- LIEBEMAN H.S.- ALBANDIAN N.M.N.

Effect of pluronic F-68 on blood coagulation and platelet aggregation.

18 th Annual Symposium on blood oxygenation. Détroit-Michigan 1970.

45- HOLADAY D.A.- FISEROVA- BERGEROVA V.- MODELL J.H.

Uptake, distribution and excretion of fluorocarbon FX-80 during liquid breathing in the dog.

Anesthesiology, 1972, vol.37, N°4, 387-394.

46- HOWLETT S.- DUNDAS D and SABISTON D.

Fluid fluorocarbon as oxygenator in experimental extracorporeal oxygenation.

Arch. Surg. 1965, T.91, 643.

47- KAPLAN H.R. and MURTHY V.S.

Hemoglobin solution: a potential oxygen transporting plasma volume expander.

Fed. Proc. 1975, vol.34, N°6, p.1461-65.

48- KIESOW- SHELTON, BLESS.

Détermination of molecular O₂ dissociation curves in hemoglobin solutions with a liquid F. molecular oxygen transport system.

An. Biochem. 1974, T.58, p. 14-24.

49- KLEBANOFF C.- HOLLANDER D.-COSIMA L.B.-STANFORD W-KEMMERER W.T.

Asanguineous hypothermic total body perfusion in the treatment of stage IV hepatic coma.

J. Surg. Res. 1972, 12, 1-7.

50- KNOBLER L.R.

Vacuolar reaction in the spinal cord following intracardiac fluorocarbon glutaraldéhyde- formaldéhyde perfusion: preliminary report.

Fed. Proc. 1975, vol.34, N°6, 1515.

51- KRONES W.-HUTTINER W.B.

Long-term perfusion of the isolated rat liver: maintenance of its functioneal state by use of a F. emulsion.

Biochemica et Biophysica Acta, 4 nov.1974, vol.372, N°1.

52- KYLSTRA J.A.- RAHN H.-

Fed.Proc. 1970, 29, 1754.

53- KYLSTRA - RAUSCH et Al.

Volume-controlled lung lavage in the treatment of asthma , bronchiectasis and mucoviscidosis.

Am. Rev.Resp. 1971, 103, 651-665.

54- KYLSTRA.

Alveolar surface tension in fluorocarbon -filled lings.

J. Appl.Physiol. 1972, 33, 32-35.

55- KYLSTRA-

Liquid breathing.

Undersa Biomedical Research., sept. 1974, vol.1, N°3.

56- LANDE A.J.- CLAFF C.L.-SONSTEVAR D.- ROBERTS R.-PERRY C.-
LILLEHEI C.W.

An extracorporeal artificial gill utilising liquid fluorocarbon.

Fed. Proc. 1970, vol.29, N°5, 1805-1808.

57- LAU P.- SHANKAR V.S.-WURZEL H.A.- SLOVITER H.A.

Coagulation defects in animals after infusion of dispersed fluorochemical (FC-80).

Transfusion, 1973, 135, p.340.

58- LE BLANC Maurice.

Préparation et utilisation en synthèse de dérivés perfluoroalkylés.

Thèse Université de Nice- mars 1976.

59- LICHTENBERGER R.

Les dérivés fonctionnels des FC- voies d'accès industrielles-
utilisation.

Conférence au 3ème Colloque Européen sur la chimie du fluor.
Septembre 1970.

60- LINN B.S.- CANADAY W- BRETON W.- GOLLAN F.

Kidney preservation by perfusion with organic liquides.
Surg. Forum , 1967, 18, 278-9.

61- LONG-LIU-SZANTO-ALRENGA.

Efficacity and toxicity studies with radio opaque perfluorocarbon.
Radiology, 1972, 105, 323-332.

62- LOWENSTEIN E.- LINCOLN J.C.R.- MODELL J.H.- AUSEN W.G. and
LAVER M.B.

Preservation of excised canine lungs by ventilation with liquid
fluorocarbon.

Fed. Proc. 1970, T.29, N°5, 1775-1788.

63-Mac CULLOUGH W.B.- JACOBS J.R. et HALASZ N.A.

Renal perfusion and preservation with fluorocarbon emulsion.
Surg. Forum, 1969, 20: 308.

64- MAKI T.- HORI M.- IDEZUKI Y.

Severe circulatory derangement induced by intravenous fluorocarbon
emulsion.

J. Surg. Res. 1972, T.2, 90-95.

65- MALCHESKY P.S.- NOSE Y.

Inert organic liquid as biological oxygen carrier.

Fed. Proc. 1970.

66- MALCHESKY, NOSE.

The concept of biological liquid oxygenation: extracorporeal
blood oxygenation.

Fluoride, 1973, t.6, 84-93.

67- MAUGH

Perfluoro-chemical emulsions: promising blood substitutes.
SCIENCE, 1973, 179, 669-672.

68- MAZIA D. and RUBY.

A chamber for the prolonged observation of cells under compression.

Experimental cell research, 1967, 45, 505-506.

69- MODELL J.H.

Discussion on theory and technology of gas transport by non-ionic liquids.

Fed. Proc. 1970, 29, 1721-3.

70- MODELL J.H.- NEWBY E.J.- and RUIZ B.C.

Long-term survival of dogs after breathing oxygenated fluorocarbon liquid.

Fed. Proc. 1970, 29, 5, 1731-1736.

71- MODELL J.H.- HOOD C- KUCK E.J.- RUIZ B.C.

Oxygenation by ventilation with fluorocarbon liquid (FX-80).

Anesthesiology, 1971, 34: 4, 312-320.

72- MODELL J.H.- GOLLAN F.- GIAMMONA S.T.

Effect of fluorocarbon liquid on surface tension properties of pulmonary surfactant.

Chest 1970, 57, 263-265.

73- MODELL J.G.- THAM N.K.- MODELL J.H.- CALDERWOOD, RUIZ B.C.

Distribution and retention of fluorocarbon in mice and dogs after injection or liquid ventilation.

Toxicology and Applied Pharmacology, 1973, 26, 86-92.

74- MOK W.- DIAN-ER-CHEN and MAZUR A.

Cross-linked hemoglobins as potential plasma proteins extenders.

Fed. Proc. 1975, vol.34, N°6, 1458-60.

75- MOSKOWITZ G.D.

A chemical respirator for control of liquid breathing.

Fed. Proc. 29, 1751-1752.

76-NAKABAYASHI N.

Advances in artificial blood.

J. Synth. Org. Chem. 1972, 30, 500-513.

77- NEELY W.A.- TURNER M.D.-HAINING J.L.

Asanguineous total body perfusion.

J. Am. Med. Assoc., 1963, 184, 718-721.

77 bis- NOSE , KON T.-WEBER O. et Col.

Physiological effects of intravascular fluorocarbon liquids.

Fed. Proc. 1970, vol.29, N°5, p.1789-1804.

78- NOVAKOVA V- BIRKE G and L.O. PLANTIN.

Synthesis of serum-albumine in isolated rat liver perfused by a synthetic medium with FC-80 emulsion as oxygen carrier.

Acta Physiologica Scandinavia, 1974, vol.92, N°3.

79- NOVAKOVA V.-BIRKE G.-PLANTIN L.O. and WRETLIND A.

Studies on isolated rat liver perfused by perfluorocompound emulsions.

Fed. Proc. 1975, 34, 6, 1488-1492.

80- PARILLA F.- WEAR J.P.- WAGNER H. Van.

Effect of fluorocarbon emulsion on the mechanical fragility of normal and sickle cells: in vitro studies.

Fed. Proc. 1975, 34, 6: 1510-1512.

81- PATEL M.M.- SZANTO P.- YATES B.-LONG D.M.

Survival and histopathologic changes in lungs of hamsters following synthetic liquid breathing.

Fed. Proc. 1970, 29, 1740-1745.

82- PATEL-PATEL.

Ventilation with synthetic fluids.

Surg. Clin. Amer. Février 1971, 51, 25-36.

83- PATERSON J.W.- SUDLOW M.F.- and WALKER S.R.

Blood levels of fluorinated hydrocarbons in asthmatic patients after inhalation of pressurized aerosols.

LANCET 1971, 2, 565-568.

84- PITZELE S.- HAGEMAN A.- DOBELL A.R.

A liquid-liquid oxygenator utilizing oxygen-saturated inert fluorocarbon for organ perfusion-preservation.

Surgery, 1970, 68, 1079.

85- POEHLMAN G.

Hyperbaric cyobiology.

The Missouri Shamrock 1968, may, 6-9.

86- RABINER S. F.

Hémoglobin solutions as a plasma expander .

Fed. Proc. 1975, vol.34, N°6, p.1454-57.

87- RAPAZZO H.

Cyanocobolamin transport proteins in canine plasma.

Am. J. Physiol. 1972, 222: 202.

88- REED T.M.

Physical chemistry of fluorocarbons.

In " Fluorine Chemistry", 1964, N.Y., 5, 133-276.

Edit. SIMONS .J.H. Academic Press.

89- RIESS J.C.

Les fluorocarbones transporteurs de gaz dissous comme substituts du sang.

Congrès National d'Anesthésie-Réanimation, mai 1974..

90- ROSENBLUM W.I.

Medical college of va, Richmond Virginia.

Fluorocarbon emulsions as a blood substitute.

Circulation, 1972, 46, , 1148.

91- ROSENBLUM W.I.

Fluorocarbon emulsions and cerebral microcirculation.
Fed. Proc. 1975, 34, N°6, 1493-1498.

92- ROSENBLUM W.I.- HADFIELD M.G.- MARTINEZ J.-SCHATZKI P.

Alteration of liver and spleen following intravenous infusion
of fluorocarbon emulsions.
Arch. Pathol. Lab. Med., avril 1976, T.100: 213-217.

93- RUFER R.

Surfactant and alveolar surface forces after breathing of an
inert fluorinated liquid.
Fed. Proc. 1970, 29, 1813-15.

94- RUFER R.

Blood oxygenation by intracorporeal liquid breathing with F.
Fluoride, 1973, vol.6, N°2, 94-100.

95- RUFER-SPITZER.

Liquid ventilation in the respiratory distress syndrome.
Chest, jul.1974, T.66 (suppl), 29-30.

96- SAGA S.-MODELL J.H.-CALDERWOOD, LUCAS A.J.-THAM M.K.-SWENSON A.V.

Pulmonary function after ventilation with fluorocarbon liquid P
12 F. (Caroxin F.)
J. Of Appl. Phys. , fév. 1973, vol.34, N°2.

97- SANTINI G.

Synthèse de composés perfluoroalkylés à l'aide d'organométalliques
Thèse Université de NICE- mars 1976-

98- SARGENT J.W.

Discussion on theory and technology of gas transport by non-ionic
liquids.
Fed. Proc. 1970, 29, 1721-3.

99- SARGENT J.W. - SEFFL R.J.

Properties of perfluorinated liquids.
Fed. Proc. 1970, 29, 1699-1703.

100- SASS- KITMAN-LASKEY-BANCHERO-WOOD.

Liquid breathing prevention of pulmonary arterial-venous shunting during acceleration.

J. App.Phys., ap.1972, T.32 (4), 451-5.

101- SCHMOLKA I.R.

Theory of émulsions.

Fed. Proc. 1970, 29, 1717-1720.

102- SCHMOLKA I.R.

Artificial blood emulsifiers.

Fed. Proc. 1975, vol.34, N°6, 1449-1453.

103- SCHOENFISH.

Maximum expiratory flow and estimated CO₂ elimination in liquid ventilation dog's lungs.

J. Appl. Physiol. , jul.1973, 35, 117-121.

104- SAGA S.- MODELL J.H.- CALDERWOOD H.W.- LUCAS A.J.- THAM M.K.
SWENSON E.W.

Pulmonary function after ventilation with fluorocarbon liquid P-12 F. (Carcxin F).

J. of Applied Phys. 1973, 34, N°2, 160-164.

105- SHEPPARD W.A.- SHARTS C.M.

Organic fluorine chemistry.

BENJAMIN N.Y., 1969.

106- SILVERGLADE A.

Cardiac toxicity of aerosol propellants.

JAMA 1972, 222, 827-828.

107- SLOVITER H.A.- KAMINOTO T.

Erythrocyte substitute for perfusion of brain.

Nature, 1967, 216, 458-460.

108- SLOVITER-PETROVIC.

Dispersed fluorochemicals as substitutes for erythrocytes in intact animals.

J. of Appl. Phys. 1969, 27, N°5, 666-668.

109- SLOVITER H.A.

Erythrocyte substitutes.

Medical Clinics of north américa. 1970, 54, 787.

110- SLOVITER H.A., YAMADA H.-OGOSHI S.

Some effects of intravenously administered dispersed fluoro chemicals in animals.

Fed.Proc. 1970,, 29, 1755-57.

111- SLOVITER, STEINBERG and FISHER.

Fed. Proc. 1974, 33, 323.

112- SLOVITER H.A.

Perfluoro compounds as artificial erythrocytes.

Fed. Proc. 1975, vol.34, N°6, 1484-1487.

113- SPITZER H.L.- SACHS G.- CLARK Jr L.C.

Fluorocarbon effects on tissue metabolism.

Fed. Proc. 1970, 29, 1746-1750.

114- SPITZER- SACHS-

Long-term effects of F. breathing on tissue metabolism .

Fluoride 1973, 6,2,101-106.

115- STREIFF F.- STOLTZ J.F.-VIGNERON C.-LABRUDE P.-GRANIER L.-
LESIEUR M.

Transporteurs d'O₂ et sang artificiel.

Actualités transfusionnelles, 1974, 210-214.

116- Toxicology of 3 M brand inert fluorochemical liquids.

3 M. Company technical service, feb. 1966, N°3.

117- TRINER L.- VEROSKY H.-HABIF D.V. and NAHAS G.

Perfusion of isolated liver with fluorocarbon emulsions.

Fed. Proc. 1970, vol.29, N°5, 1773-81.

118- TUAZON J.C.-MODELL J.H.-HOOD C.F.- SWENSON E.W.

Pulmonary function after ventilation with fluorocarbon liquid
(Caroxin D).

Anesthésiology, février 1973, 38, 134.

119- ULLRICH and DIEHL.

Uncoupling of monooxygenation and electron transport by F. in liver microsomes.

Eur. J. Biochem. 1971, 20, 509-512.

120- WALLACE - ASHER-ZUBROW.

Liquid-membrane oxygenator.

J. of thoracic and CV Surgery, 1973, vol.66, N°2, 887.

121- WALLACE.

Liquid-liquid oxygenation: a new approach.

Trans. Amer. Soc. Artif. Intern. Organs. 1973, 19, 80-6.

122- WALLACE H.W.- STEIN T.P.- ASHER W.J.

Evaluation of fluorochemicals for liquid membrane oxygenation.

Fed. Proc. 1975, vol.34, N°6, 1506-1509.

123- YOKOYAMA K.- YAMANOVCHI, WATANABE et coll.

Preparation of perfluorodecalin emulsion, an approach to the red cells substitute.

Fed. Proc. 1975, vol.34, N°6, 1478-1483.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION

=====

GENERALITES-DEFINITIONS

=====

ETUDE BIOCHIMIQUE DES COMPOSES PERFLUORES

=====

I-LES FLUOROCARBURES PURSA- SYNTHESE DE FLUOROCARBURES (FC) p. 6

1- Fluoration par le fluor élémentaire

2- Fluoration électrochimique

B- LES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES p. 8

1- Stabilité chimique et thermique

2- Propriétés physiques

3- Propriétés chimiques

a- Solubilité des gaz dans les FC

b- Solubilité des FC.

II-LES EMULSIONS DE FLUOROCARBURES p. 12A- DéfinitionB- Caractères de l'émulsion.

C- Préparation des émulsions

p. 15

1- Choix des FC2- Choix du surfactant3- Procédés d'émulsionnement4- Caractéristiques finales de l'émulsion p. 19

METHODES DE DOSAGE-METABOLISME

P. 23

=====

A- LES METHODES DE DOSAGE1- Combustion par le sodium biphényle2- Chromatographie gazeuse3- Centrifugation4- Microscopie optique et électroniqueB- METABOLISME DES FLUOROCARBURES ET DISTRIBUTION
DANS L'ORGANISME.

p. 25

1- Après introduction I.V

p. 26

2- Après introduction par voie intrapérito-
néale

p. 28

3- Introduction par voie pulmonaire

p. 29

C- RELATIONS STRUCTURES METABOLISME

p. 30

1- Relation entre demi-vie et taille des
particules

p. 30

2- Relation tension de vapeur - métabolisme

p. 31

3- Relation structure-métabolisme

P. 31

TOXICITE

P. 34

=====

A- TOXICITE DES FLUOROCARBURES PURS

p; 34

1- <u>Etude in vitro</u>	
2- <u>Etude in vivo</u>	p. 35
B- <u>TOXICITE DES EMULSIONS</u>	p. 40
1- <u>Toxicité générale</u>	p. 40
a- pulmonaire	p. 40
b- cardiovasculaire	p. 41
c- coagulation	p. 42
d- hépatique	p. 43
2- <u>Toxicité métabolique</u>	p. 43
C- <u>FACTEURS DE LA TOXICITE</u>	p. 44
1- <u>Rapport toxicité-propriétés physico-chimiques</u>	
a- Tension de vapeur	
b- Structure	p. 45
2- <u>Rapport toxicité-caractères de l'émulsion</u>	p. 46
a- taille des particules	p. 46
b- Caractère de pureté	p. 47
c- nature de l'émulsionnant	p. 47
d- mode de préparation	p. 48
e- Caractères écoulement de l'émulsion dans les vaisseaux.	p. 48
REVUE DES PRINCIPALES EXPERIMENTATIONS DE LA LITTERATURE	p. 50
=====	
I- <u>LE SANG ARTIFICIEL</u>	p. 50
A- <u>Capacité de maintenir la vie au niveau de :</u>	
1- L'échelon cellulaire	

2- L'échelon tissulaire

a- le foie p. 51

b- le coeur p. 53

c- les reins p. 53

3- L'organisme entier p. 54B- Conclusions p. 58C- Applications pratiques p. 60

1- Applications de recherche

2- Applications cliniques

II- LA RESPIRATION LIQUIDIENNE p. 62III- L'OXYGENATION EXTRACORPORELLE p. 70

EXPERIMENTATION PERSONNELLE p. 74

=====

I- MATERIEL ET METHODES p. 75A- Les fluorocarbures testés p. 75B- Les émulsions p. 76C- Les animaux d'expérience p. 80D- Protocoles d'étude : p. 80

1- Etude de la toxicité

a- des FC purs

b- des émulsions p. 81

2- Exsanguinotransfusions p. 81

II- RESULTATS

p. 84

A- Etude de la toxicité

p. 84

1- FC purs

2- les émulsions :

a- administration intra-péritonéale

b- administration intra-veineuse

B- Exsanguinotransfusions. (EST)

p. 85

1- Mortalité

2- Délai de survie après la fin de l'EST

3- Etat clinique

p. 86

4- Etude de l'hématose

p. 87

5- Etude du fluorocrite

p. 90

6- Transaminases

p. 91

7- Analyse des urines

p. 91

8- Autopsies-Lésions histologiques

p. 91

C- DISCUSSION

p. 93

CONCLUSIONS

=====

II- RESULTATS

A- Etude de la toxicité

1- FC pure

2- les émulsions :

a- émulsion intra-péritonéale

b- émulsion intra-veineuse

p. 82

B- Examens complémentaires (EST)

1- Mortalité

2- Délai de survie après la fin de l'EST

p. 86

3- Examens cliniques

p. 87

4- Etude de l'hépatite

p. 88

5- Etude de l'insémination

p. 91

6- Transaminases

p. 91

7- Analyse des urines

p. 91

8- Autopsies-lésions histologiques

p. 92

C- DISCUSSION

CONCLUSIONS

REMERCIEMENTS

